



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

PRISCILA DOMINGUES ALAMAR

**APLICAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO E QUIMIOMETRIA NA
AVALIAÇÃO DA QUALIDADE, ESTABILIDADE DE VITAMINA C E FRAUDE EM POLPA
DE FRUTAS**

**INFRARED SPECTROSCOPY AND CHEMOMETRICS APPLICATION IN FRUIT PULPS
QUALITY EVALUATION, VITAMIN C STABILITY AND ADULTERATION**

**CAMPINAS
2019**

PRISCILA DOMINGUES ALAMAR

**APLICAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO E QUIMIOMETRIA NA
AVALIAÇÃO DA QUALIDADE, ESTABILIDADE DE VITAMINA C E FRAUDE EM POLPA
DE FRUTAS**

**INFRARED SPECTROSCOPY AND CHEMOMETRICS APPLICATION IN FRUIT PULPS
QUALITY EVALUATION, VITAMIN C STABILITY AND ADULTERATION**

*Tese apresentada à Faculdade de Engenharia
de Alimentos da Universidade Estadual de
Campinas como parte dos requisitos exigidos
para a obtenção do título de Doutora em Ciência
de Alimentos.*

*Thesis presented to the Faculty of Food
Engineering of the University of Campinas in
partial fulfillment of the requirements for the
degree of Doctor, in the area of Food Science.*

Supervisora/Orientadora: JULIANA AZEVEDO LIMA PALLONE

Este exemplar corresponde à versão final
da tese defendida por Priscila Domingues
Alamar, orientada pela Prof^a. Dr^a. Juliana
Azevedo Lima Pallone.

**CAMPINAS
2019**

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Claudia Aparecida Romano - CRB 8/5816

AL11i Alamar, Priscila Domingues, 1986-
Infrared spectroscopy and chemometrics application in fruit pulps quality evaluation, vitamin C stability and adulteration. / Priscila Domingues Alamar. – Campinas, SP : [s.n.], 2019.

Orientador: Juliana Azevedo Lima Pallone.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Frutas - Brasil. 2. Espectroscopia de infravermelho. 3. Quimiometria. I. Pallone, Juliana Azevedo Lima. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Aplicação da espectroscopia no infravermelho e quimiometria na avaliação da qualidade, estabilidade de vitamina C e fraude em polpa de frutas.

Palavras-chave em inglês:

Fruits - Brazil

Infrared spectroscopy

Chemometrics

Área de concentração: Ciência de Alimentos

Titulação: Doutora em Ciência de Alimentos

Banca examinadora:

Juliana Azevedo Lima Pallone [Orientador]

Flávio Luís Schmidt

Douglas Fernandes Barbin

Fabíola Manhas Verbi Pereira

Patrícia Valderrama

Data de defesa: 14-05-2019

Programa de Pós-Graduação: Ciência de Alimentos

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <http://orcid.org/0000-0001-7465-4769>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/4130644978422136>

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Juliana Azevedo Lima Pallone (Orientadora/Presidente da Banca)
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS – UNICAMP

Prof. Dr. Flávio Luis Schmidt (Membro – titular)
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS – UNICAMP

Prof. Dr. Douglas Fernandes Barbin (Membro – titular)
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS – UNICAMP

Prof^a. Dr^a. Fabíola Manhas Verbi Pereira (Membro – titular)
INSTITUTO DE QUÍMICA – UNESP (Araraquara)

Prof^a. Dr^a. Patrícia Valderrama (Membro – titular)
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - UTFPR

A Ata da Defesa, assinada pelos membros da Comissão Examinadora, consta no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

*“Algumas coisas sempre parecem impossíveis
até que sejam realizadas. ”*

(Nelson Mandela)

A meus pais e minha irmã que tanto me apoiaram
e incentivaram o meu crescimento profissional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por toda a força e proteção dada ao longo de minha vida.

Agradeço aos meus queridos pais, Elisa e Carmino, e à minha querida irmã Patricia por todo o incentivo e ombros para os momentos mais difíceis.

Agradeço à minha orientadora Prof^a. Juliana Pallone pelos ensinamentos e assistência durante essa orientação.

Agradeço à Faculdade de Engenharia de Alimentos e Universidade Estadual de Campinas pela oportunidade de realização do trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001 e com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), número do processo 2015/15848-0.

RESUMO

Polpa de fruta é produzida sem adição de água e açúcar e pode ou não sofrer tratamento térmico durante o processamento. Duas principais representantes das frutas mais produzidas no Brasil e aplicadas na elaboração de polpa congelada são goiaba e maracujá. Para assegurar a qualidade final das polpas elaboradas, a legislação brasileira definiu valores para os padrões de identidade e qualidade (PIQ) para sólidos solúveis, pH, acidez total, ácido ascórbico, açúcares totais e sólidos totais, que são normalmente determinados através de análises tradicionais, porém, demandam uso de reagentes que produzem resíduos tóxicos, além de longo tempo para obtenção de resultados. Nesse contexto, a espectroscopia no infravermelho (combinada com quimiometria) pode ser uma alternativa às técnicas tradicionais para a avaliação desses parâmetros. Esse trabalho objetivou a aplicação da espectroscopia no infravermelho (NIR e MIR) e quimiometria na determinação de PIQ de polpas de maracujá amarelo e goiaba, a detecção de fraudes e efeitos de processamento e estocagem em polpas de goiaba. Inicialmente, amostras comerciais foram coletadas e os parâmetros foram quantificados por métodos tradicionais e espectros no NIR foram coletados para a obtenção de modelos PLSR. Os modelos de calibração apresentaram-se satisfatórios para todos os parâmetros, exceto pH para polpa de goiaba, devido à baixa variabilidade dos valores encontrados, e ácido ascórbico para polpa de maracujá, devido aos baixos teores encontrados para as polpas. Para maioria dos parâmetros encontrou-se diversas amostras em desacordo com a legislação, principalmente sólidos totais (abaixo do esperado para cerca de metade das amostras) e ácido ascórbico (inferior a quase todas as amostras). Devido ao alto teor de água encontrado nas polpas comerciais foi estudada a possibilidade de fraude em polpas de goiaba pela adição de água e açúcar, para o aumento de seu rendimento. Para avaliar a adulteração desse produto, polpas de goiaba autênticas foram elaboradas em planta piloto, organizadas em grupos de amostras autênticas e adulteradas (água ou açúcar) e espectros NIR e MIR foram coletados para a realização de análises discriminativas (modelos de classificação e cartas de controle). Os modelos de classificação criados possibilitaram a diferenciação dos grupos de amostras adulteradas, tanto com água quanto com açúcar, sendo a ferramenta k-NN (*k-Nearest Neighbor*) escolhida para ambas espectroscopias. Cartas de controle para açúcar foram satisfatórias para ambas espectroscopias, porém para cartas de controle para água, apenas MIR conseguiu diferenciar os grupos de amostras. Além disso, as amostras produzidas em planta piloto (pasteurizadas ou não) foram avaliadas quanto ao teor em ácido ascórbico após processamento e durante um ano de armazenamento em congelamento para determinação da estabilidade da vitamina nesses processos. A espectroscopia NIR foi aplicada para quantificar o composto durante os meses de armazenamento e foi considerada adequada para determinar a perda do bioativo nas polpas pasteurizadas ou não, e apontou perdas de 20 a 40%. Sendo assim, foi possível concluir que a espectroscopia no infravermelho pode ser considerada uma ótima ferramenta para avaliação de parâmetros de qualidade, detecção de possíveis fraudes em polpas de frutas e acompanhamento de efeitos no processamento e armazenamento.

ABSTRACT

Fruit pulp is produced without water and sugar addition and may or may not undergo heat treatment during processing. Guava and yellow passion fruit are widely produced in Brazil and they are used for frozen pulp elaboration. In order to ensure the final quality of the elaborated pulps, Brazilian legislation defined identity and quality standards (IQS) for soluble solids, pH, total acidity, ascorbic acid, total sugars and total solids, which are usually determined through traditional analyzes, however, they require the application of reagents that result in toxic wastes, as well as high time in results obtaining. In this context, infrared spectroscopy (combined with chemometrics) may be an alternative to traditional techniques in these parameters evaluation. This work aimed at the application of infrared spectroscopy (NIR and MIR) and chemometrics in IQP determination for guava and yellow passion fruit pulps, fraud detection and effects of processing and storage in guava pulps. Initially, commercial samples were collected and all six parameters were quantified by traditional methods and NIR spectra were collected to obtain PLSR models. Calibration models were satisfactory for all parameters, except pH for guava pulp, due to the low variability of the values found, and ascorbic acid for passion fruit pulp, due to the low contents found for the pulps. Several samples were found to be inconsistent with the legislation for most parameters, mainly total solids (below expected for about half of the samples) and ascorbic acid (lower than desired in almost all samples). Due to the inadequate water content found in the commercial pulps, the possibility of fraud in guava pulps by the addition of water and sugar, applied in the increase of their yield, was studied. In order to evaluate the adulteration of this product, authentic guava pulps were elaborated in a pilot plant, organized into groups of authentic and adulterated samples (water or sugar) and NIR and MIR spectra were collected for discriminatory analyzes (classification models and control charts). Classification models created allowed the differentiation of groups of adulterated samples, with both water and sugar, being the k-NN tool chosen for both spectroscopies. Control charts for sugar were satisfactory for both spectroscopies, but only MIR control charts for water was able to differentiate the groups. Furthermore, samples produced in pilot plant (with or without pasteurization) were evaluated for the content of ascorbic acid after processing and during one year of storage at freezing for the determination of vitamin stability in these two cases. NIR spectroscopy was applied to quantify the compound during the months of storage and was considered adequate to determine the loss of the bioactive in both pasteurized and non-pasteurized pulps, and indicated losses of 20 to 40%. Thus, it was possible to conclude that infrared spectroscopy can be considered as a good tool for the evaluation of quality parameters, detection of possible fruit pulp frauds and monitoring effects on processing and storage.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO GERAL E OBJETIVOS

1. INTRODUÇÃO GERAL	14
2. OBJETIVOS	16
2.1. OBJETIVO GERAL.....	16
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16

CAPÍTULO II

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. OS CULTIVARES.....	19
1.1. GOIABA.....	19
1.2. MARACUJÁ AMARELO.....	19
2. POLPA DE FRUTA CONGELADA E CONTROLE DE QUALIDADE	20
3. QUALIDADE NUTRICIONAL DE POLPAS DE FRUTA.....	23
4. A ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO NA ANÁLISE DE ALIMENTOS	24
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

CAPÍTULO III

Quality evaluation of frozen guava and yellow passion fruit pulps by NIR spectroscopy and chemometrics

ABSTRACT	32
1. INTRODUCTION	32
2. MATERIAL AND METHODS	33
2.1. SAMPLES	33
2.2. REFERENCE METHODS FOR CHEMICAL ANALYSIS	33
2.3. SPECTRA ACQUISITION	33
2.4. CHEMOMETRICS	33
3. RESULTS AND DISCUSSION	34
3.1. CHEMICAL ANALYSIS	34
3.2. PLSR CALIBRATION AND PREDICTION RESULTS	34
4. CONCLUSION	36

ACKNOWLEDGEMENTS	36
REFERENCES	36

CAPÍTULO IV

Detection of fruit pulp adulteration using multivariate qualitative analysis: Comparison of NIR and MIR performance

ABSTRACT	39
1. INTRODUCTION	39
2. MATERIAL AND METHODS	41
2.1. AUTHENTIC GUAVA PULP	41
2.2. SPECTRA ACQUISITION.....	41
2.2.1. NIR Spectra.....	41
2.2.2. MIR Spectra.....	41
2.3. CHEMOMETRICS	42
2.4. DISCRIMINANT ANALYSIS	42
3. RESULTS AND DISCUSSION.....	43
3.1 NIR AND MIR SPECTROSCOPIC ANALYSIS	43
3.2 PCA AND CONTROL CHARTS.....	44
3.3 CLASSIFICATION MODELS	47
4. CONCLUSION	49
ACKNOWLEDGEMENTS	50
REFERENCES	50

CAPÍTULO V

Monitoring of Effects of the Pasteurization Process and Stability During Frozen Fruit Pulp Storage in Vitamin C Content by Near Infrared Spectroscopy

ABSTRACT	53
1. INTRODUCTION	53
2. MATERIAL AND METHODS	54
2.1 GUAVA PULP PRODUCTION.....	54
2.2 ASCORBIC ACID (AA) EVALUATION BY REFERENCE METHOD	54
2.3 NIR SPECTRA ACQUISITION.....	55
2.4 CHEMOMETRICS	55
3. RESULTS AND DISCUSSION.....	55
3.1 PROCESSING EFFECTS ON AA CONTENT.....	55

3.2	PLSR CALIBRATION FOR AA CONTENT	57
3.3	ASCORBIC ACID EVALUATION DURING STORAGE	59
4.	CONCLUSION	60
	ACKNOWLEDGEMENTS	60
	REFERENCES	60
	SUPPLEMENTARY MATERIAL	62
	DISCUSSÃO GERAL	63
	CONCLUSÃO GERAL	70
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
	ANEXOS	74

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO GERAL E OBJETIVOS

1. INTRODUÇÃO GERAL

A produção mundial de frutas está em constante crescimento, assim como o consumo dos subprodutos de frutas pela população. A conscientização da população sobre a necessidade de uma vida saudável traz a busca por uma alimentação mais balanceada e com o consumo de frutas frescas e seus subprodutos (devido a praticidade de consumo). O consumo per capita de frutas também deve continuar crescendo no Brasil e no mundo, segundo as projeções a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) (SCOGNAMIGLIO, 2017).

Os três maiores produtores de frutas são a China, a Índia e o Brasil, representando mais de 45% do total produzido no mundo e suas produções são destinadas, principalmente, para os seus mercados internos. As frutíferas mais produzidas no mundo são: banana, melancia, maçã, uva e laranja (ANDRADE, 2017).

O Brasil produziu, em 2015, em torno de 41 milhões de toneladas de frutas, 1,4% inferior ao ano de 2014. Essa diminuição foi associada às mudanças nas condições climáticas no país. Os dois maiores fruticultores no Brasil são os estados de São Paulo e Bahia. Os fruticultores do estado de São Paulo colheram quase 16 milhões de toneladas de frutas em 2015, enquanto que a produção no estado da Bahia chegou a quase 5 milhões de toneladas (REETZ et al., 2017).

As frutíferas brasileiras de maior produção nacional são laranja, banana, abacaxi, uva, maçã e mamão. As frutas mais produzidas no estado de São Paulo são a laranja, a banana e limão, enquanto que no estado da Bahia as frutas mais produzidas são a banana, o mamão e o maracujá (LULIA et al., 2016).

O cultivo da goiaba no Brasil foi próximo de 415 mil toneladas de frutos por ano, sendo empregada na produção industrial de subprodutos como: polpa, purê, doce, compota, néctar, suco, etc. A goiaba apresenta um alto valor nutritivo, o que é considerado um de seus principais atrativos, já que contém cerca de 150 a 209 calorias por 100g de fruta e um dos mais altos teores de vitamina C (600mg/100g de fruta), superada apenas pela acerola (LIMA; ASSIS; GONZAGA NETO, 2002; LULIA et al., 2016).

A cultura do maracujazeiro está consolidada no Brasil e sua importância cresce a cada ano. Em 2016, a produção total foi de mais de 700 mil toneladas de maracujá, sendo o estado da Bahia como o principal produtor, representando 9,3% da produção brasileira de maracujá. Além de consumido in natura, o maracujá é utilizado na produção de polpa congelada, suco pronto para beber, suco integral, suco concentrado e geleia (CUNHA, 2013; LULIA et al., 2016).

Os frutos de goiaba e maracujá são amplamente consumidos como polpa de frutas devido a sua praticidade. Atualmente, os consumidores buscam adquirir os produtos

saudáveis que apresentam uma maior facilidade de consumo, sendo assim, aumentou, nos últimos anos, a procura por frutas minimamente processadas (cortadas e embaladas), por polpas de um único fruto ou de blendas e por sucos e néctares (SANTOS; KONDA, 2016).

A transformação dos frutos frescos em polpa é impulsionada devido à alta perecibilidade e sazonalidade das matérias primas e é responsável por agregar valor econômico aos frutos, diminuindo desperdícios e perdas e aumentando a vida útil com consequente manutenção da qualidade (COSTA; CARDOSO; SILVA, 2013).

A verificação da qualidade de polpas de fruta é estabelecida pela legislação brasileira (BRASIL, 2000) através da Instrução Normativa nº 01 de 07 de janeiro de 2000, a qual determinou Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) para polpa de fruta. Além do PIQ específico para as polpas, a qualidade desse produto pode ser verificada considerando suas características funcionais, através da determinação de seus teores em compostos bioativos e sua capacidade antioxidante.

Os parâmetros de qualidade das polpas são comumente quantificados por métodos tradicionais com a utilização de reagentes e solventes químicos, responsáveis por causar danos ao manipulador e pela poluição ambiental. Tais métodos são dispendiosos e consomem muito tempo para a obtenção do resultado final, além de que, a maioria desses métodos, produzem uma grande quantidade de resíduos e requerem analistas treinados para a sua realização.

A busca de alternativas ambientalmente amigáveis é um dos princípios da Química Analítica Verde (QAV). A redução dos impactos negativos causados por análises químicas ao meio ambiente e a possibilidade de implementação dos princípios do desenvolvimento sustentável aos laboratórios químicos podem ser alcançados pela aplicação de técnicas verdes como a espectroscopia no infravermelho próximo (GAŁUSZKA; MIGASZEWSKI; NAMIEŚNIK, 2013).

As espectroscopias no infravermelho próximo (NIR) e médio (MIR) são técnicas analíticas não destrutivas e que não fazem uso de reagentes/solventes e requer um mínimo ou nenhum preparo de amostra, sendo assim considerada uma técnica da QAV. Além dessas características, a espectroscopia no infravermelho apresenta baixo custo e é considerada uma técnica rápida. A análise de seus espectros para necessita da aplicação da quimiometria, possibilitando a determinação de diversos parâmetros simultaneamente (BURNS; CIURCZAK, 2007). A espectroscopia no infravermelho é amplamente aplicada na verificação da qualidade de alimentos in natura e processados de origem animal e vegetal (ALAMAR et al., 2016; CARAMÊS et al., 2016; DE OLIVEIRA et al., 2014; PISSARD et al., 2013; QU et al., 2015).

Alguns desafios são encontrados na escolha da aplicação da espectroscopia no infravermelho e quimiometria, como alternativa aos métodos convencionais de análise de

alimentos, já que é necessário a análise de diversos fatores para a garantia de um modelo robusto que quantifique/qualifique os parâmetros desejados, como por exemplo o tamanho do banco de dados selecionado, os tipos de técnicas quimiométricas aplicadas, entre outros fatores.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Aplicação das espectroscopias no infravermelho próximo (NIR) e médio (MIR), com o auxílio de ferramentas quimiométricas, na determinação de padrões de identidade e qualidade (PIQ) de polpas congeladas comerciais de maracujá amarelo e goiaba e a detecção de fraudes e efeitos do processamento e do armazenamento em polpas de goiaba congelada.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver modelos de calibração PLSR com os espectros NIR para a quantificação dos parâmetros estabelecidos pelo PIQ, de polpas congeladas comerciais de maracujá amarelo e goiaba, em substituição aos métodos tradicionais.
- Criar cartas de controle e modelos de classificação através de espectros NIR e MIR para detectar fraudes por adição de água ou açúcar em polpa de goiaba autêntica.
- Avaliar a concentração de ácido ascórbico em polpa de goiaba durante processamento e armazenamento através de modelo de calibração PLSR elaborados com os espectros NIR das polpas.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAMAR, P. D. et al. Quality evaluation of frozen guava and yellow passion fruit pulps by NIR spectroscopy and chemometrics. **Food Research International**, v. 85, p. 209–214, 2016.

ANDRADE, P. F. DE S. Fruticultura. **Análise Da Conjuntura Agropecuária Safra 2016/17**, v. d, p. 1–9, 2017.

BRASIL. **Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta**Instrução Normativa Nº 01, de 07 de janeiro de 2000, , 2000.

BURNS, D. A.; CIURCZAK, E. W. **Handbook of Near-Infrared Analysis**. 3rd. Ed. ed. Boca Raton: CRC Press, 2007.

CARAMÊS, E. T. S. et al. Rapid Assessment of Total Phenolic and Anthocyanin Contents in Grape Juice Using Infrared Spectroscopy and Multivariate Calibration. **Food Analytical Methods**, p. 1–7, nov. 2016.

COSTA, D. O.; CARDOSO, G. R.; SILVA, G. M. V. A evolução do setor produtivo e comercialização de polpa de fruta no Brejo Paraibano: Estudo de caso na COAPRODES. **XXXIII ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO**, p. 1–16, 2013.

CUNHA, M. **Produtividade e características de frutos de pomares de maracujá implantados com sementes originais e reaproveitadas do híbrido brs gigante amarelo**. [s.l.] Universidade de Brasília, 2013.

DE OLIVEIRA, G. A. et al. Comparison of NIRS approach for prediction of internal quality traits in three fruit species. **Food Chemistry**, v. 143, p. 223–230, jan. 2014.

GAŁUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z.; NAMIEŚNIK, J. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 50, p. 78–84, 2013.

LIMA, M. A. C. DE; ASSIS, J. S. DE; GONZAGA NETO, L. Caracterização dos frutos de goiabeira e seleção de cultivares na Região do Submédio São Francisco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 1, p. 273–276, 2002.

LULIA, M. M. E. T. et al. Produção Agrícola Municipal. **INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA -IBGE**, v. 43, 2016.

PISSARD, A. et al. Non-destructive measurement of vitamin C, total polyphenol and sugar content in apples using near-infrared spectroscopy. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 2, p. 238–244, jan. 2013.

QU, J.-H. et al. Applications of Near-infrared Spectroscopy in Food Safety Evaluation and Control: A Review of Recent Research Advances. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, n. 13, p. 1939–1954, nov. 2015.

REETZ, E. R. M. et al. **Anuário Brasileiro da Fruticultura 2017** Editora Gazeta Santa Cruz. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://www.editoragazeta.com.br/flip/anuario-fruticultura-2017/files/assets/basic-html/page11.html>>. Acesso em: 17 jun. 2018.

SANTOS, S. R. O.; KONDA, S. T. EXPORTAÇÃO DE POLPAS DE FRUTAS: “COMO UMA PEQUENA EMPRESA PODE PARTICIPAR NO COMÉRCIO”. **Revista Eletrônica Anima Terra**, p. 1–11, 2016.

SCOGNAMIGLIO, H. Brasil é 3 maior produtor de Biodiesel do mundo. n. 31/08/2014, p. 3–4, 2017.

CAPÍTULO II

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. OS CULTIVARES

1.1. GOIABA

A goiabeira (*Psidium guajava* L.) é pertencente à família das Myrtaceas, originária das regiões tropicais americanas e está distribuída ao redor do mundo. A safra de goiabas ocorre, no Brasil, nos meses de janeiro a abril e os maiores volumes de produção ocorrem no mês de fevereiro, o que faz com que o aumento da produção diminua o preço dos frutos no mercado (DA SILVA et al., 2016). A exploração da goiaba é facilitada devido aos preços atingidos pelos frutos durante a safra e pelo fato de esses frutos apresentarem boas características para consumo de mesa, assim como na elaboração de produtos industrializados (polpa congelada, goiabada, geleia, compota, goiachup (catchup de goiabas), entre outros produtos. Em comparação com outras frutas tropicais brasileiras, a goiaba destaca-se por seu valor nutricional, em combinação com seu aroma e sabor (ZIETEMANN; ROBERTO, 2007). O Brasil é o maior produtor mundial de goiabas-vermelhas, onde a produção, no ano de 2016, alcançou valores de 415 mil toneladas/ano, sendo as principais regiões produtoras o Sudeste (estado de São Paulo) e o Nordeste (LULIA et al., 2016).

A goiaba-vermelha é considerada uma fonte de vitamina C, variando de 40 a 400 mg de vitamina C em 100 gramas de fruto, teor cerca de quatro vezes maior do que a laranja. É também considerada fonte de carotenoides [licopeno (até 4 mg/100g) e β -caroteno (cerca de 2 mg/100g)] e compostos fenólicos, o que acarreta em uma boa capacidade antioxidante (DPPH), de 280 a 800 mg de equivalente ácido ascórbico por 100 gramas de fruto (CORRÊA et al., 2011).

1.2. MARACUJÁ AMARELO

Em torno de 90% da produção mundial do maracujá está concentrada em países da América do Sul, o Brasil, o Equador, o Peru e a Colômbia. O Brasil é considerado o principal produtor de maracujá amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa*), sendo o estado da Bahia o estado maior produtor dessa variedade de maracujá. A produção de maracujá amarelo no Brasil, no ano de 2016, superou as 700 mil toneladas de frutos no ano, os quais foram principalmente aplicados na produção de suco concentrado, polpa, néctares, geleias, entre outros (VIANNA-SILVA et al., 2008).

O maracujá apresenta um alto interesse comercial e a variedade amarela apresenta características físico-químicas superiores à variedade roxa, como frutos maiores e de maior peso, maior teor de carotenoides (1,5 mg de β -caroteno por 100g de polpa), maior teor de acidez, maior resistência à pragas e maior produtividade por hectare. O fruto apresenta um bom teor de compostos fenólicos, cerca de 70mg por 100 de polpa, sendo assim

caracterizado um fruto com propriedades antioxidantes (DE OLIVEIRA; NASCIMENTO; BORGES, 2002; MELO et al., 2008).

2. POLPA DE FRUTA CONGELADA E CONTROLE DE QUALIDADE

As frutas brasileiras são aplicadas na elaboração de diversos produtos industrializados, no qual a polpa é o principal desses produtos. Segundo BRASIL (2000), “polpa de fruta é o produto não fermentado, não concentrado, não diluído, obtido de frutos polposos, através de processo tecnológico adequado, com um teor mínimo de sólidos totais, proveniente da parte comestível do fruto”.

Nos últimos anos, está ocorrendo uma expansão na produção de polpa de fruta, fazendo com que o produto ganhe espaço nos mercados interno e externo. Tal cenário vem se formando devido à busca por uma alimentação mais saudável e por avanços na tecnologia de alimentos, os quais possibilitam melhores técnicas de processamento das frutas e criação de embalagens práticas que podem ser levadas ao congelamento (COSTA; CARDOSO; SILVA, 2013).

Na rota de expansão do mercado das polpas, o desenvolvimento contínuo de tecnologias para a produção de novos produtos, a procura por novos sabores e a percepção do crescimento significativo da demanda por produtos caracterizados pela sua funcionalidade, tornam a polpa um agente de grande importância para o atendimento das necessidades das agroindústrias (NASCIMENTO et al., 2012).

A qualidade das polpas de frutas deve ser avaliada seguindo as características relacionadas na Instrução Normativa 01, de 07 de janeiro de 2000 (BRASIL, 2000), a qual indica os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) específico para cada tipo de fruta. As análises básicas que devem ser realizadas para a avaliação da qualidade das polpas são: sólidos solúveis, pH, acidez total (expressa em ácido cítrico), ácido ascórbico, açúcares totais e sólidos totais (ou umidade).

Além da caracterização físico-química exigida pela legislação brasileira, as polpas de goiaba e maracujá podem ser avaliadas quanto ao seu teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante, gerando novos indicadores da qualidade desse produto. As frutas apresentam uma grande variedade de compostos antioxidantes como, por exemplo, diversos tipos de compostos fenólicos, principalmente flavonoides em suas formas glicosilada e éster, carotenoides e vitaminas (A, B, C e E), dentre essas a vitamina C é a considerada a mais abundante e as demais em pequenas quantidades dependendo das frutas avaliadas (ALMEIDA et al., 2011; LIM; LIM; TEE, 2007).

A fim de aumentar a vida de prateleira das polpas de frutas, estas são submetidas ao processo de pasteurização, pois tem a habilidade de inativar micro-organismos e enzimas. Entretanto, tratamentos térmicos podem induzir modificações químicas e físicas no produto e consequentemente alteram suas características organolépticas e reduzindo o conteúdo ou a biodisponibilidade de compostos bioativos, como os citados anteriormente (RAWSON et al., 2011).

Além da degradação de compostos bioativos devido ao tratamento térmico, certos compostos como o ácido ascórbico sofrem degradação também pela presença de luz, oxigênio, enzimas, pH, carga microbiana inicial, entre outros fatores. O ácido ascórbico pode se transformar em hidroximetilfurfural (HMF) ou furfural dependendo da concentração de oxigênio no produto, levando a escurecimento, modificação do sabor e redução da vida de prateleira do produto (TEIXEIRA; MONTEIRO, 2006).

A elaboração de polpa de fruta é um processo relativamente simples e a sua padronização é esperada devido às características específicas que o produto final deve apresentar. Por esse motivo, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) elaborou um Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta baseado em sua definição. Segundo a legislação brasileira (BRASIL, 2000) “polpa de fruta é o produto não fermentado, não concentrado, não diluído, obtido de frutos polposos, através de processo tecnológico adequado, com um teor mínimo de sólidos totais, proveniente da parte comestível do fruto”. De acordo com o tipo de fruta a qual a polpa foi produzida, a Instrução Normativa nº 01, de 07 de janeiro de 2000, determina valores limites aos parâmetros específicos (sólidos solúveis, pH, acidez total, ácido ascórbico, açúcares totais e sólidos totais) para cada tipo de polpa. A tabela 1 indica os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) para as polpas de maracujá e de goiaba.

Tabela 1. Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) para polpas de goiaba e de maracujá.

Análises	Goiaba		Maracujá	
	Min.	Máx.	Min.	Máx.
Sólidos Solúveis em °Brix, a 20°C	7	-	11	-
pH	3,5	4,2	2,7	3,8
Acidez Total expressa em ácido cítrico (g/100g)	0,4	-	2,5	-
Ácido Ascórbico (mg/100g)	40	-	-	-
Açúcares Totais naturais da fruta, (g/100g)	-	15	-	18
Sólidos Totais (g/100g)	9	-	11	-

Fonte: Adaptado de Brasil (2000).

Em certos casos, as polpas podem sofrer adição de açúcar ou algum outro ingrediente em sua formulação, porém, essas adições devem ser listadas no rótulo. As polpas produzidas que não apresentem os parâmetros, listados na tabela 1 conforme a legislação

brasileira, ou que não declararam no rótulo a adição de algum ingrediente extra podem ser consideradas fora do padrão, podendo ter sofrido alguma adulteração.

Para controlar se as polpas produzidas no Brasil encontram-se dentro dos padrões estabelecidos pelo PIQ, é comum a utilização de diversas análises físico-químicas. Esse controle pode ser feito tanto pela própria indústria quanto pelos órgãos de fiscalização. As técnicas mais aplicadas para o monitoramento dos parâmetros listados pelo PIQ são de análises de bancada que utilizam reagentes químicos, muitas vezes tóxicos. Os métodos oficiais da AOAC são amplamente utilizados nesse monitoramento, porém devido aos resíduos gerados por essas técnicas verdes são escolhidas como alternativa para evitar a contaminação ambiental e danos aos manipuladores (ALAMAR et al., 2016).

Uma técnica que vem sendo utilizada atualmente no controle da qualidade de polpas de frutas é a espectroscopia no infravermelho, tanto próximo (NIR) quanto médio (MIR). Por serem técnicas verdes, que não geram resíduos, não necessitam de preparo de amostra e que possibilitam a análise de diversos fatores ao mesmo tempo, a espectroscopia no infravermelho possibilita o controle de qualidade das polpas pela avaliação de parâmetros físico-químicos, compostos bioativos ou da possibilidade de adulteração das polpas pela adição de água, açúcar ou qualquer outro ingrediente que não seja indicado no rótulo (BAG; SRIVASTAV; MISHRA, 2011; DE OLIVEIRA et al., 2014; LOHUMI et al., 2015).

A espectroscopia no infravermelho é uma ótima alternativa para substituir análises geradoras de resíduos químicos, porém os dados espectrais coletados nesse tipo de técnica possuem uma grande quantidade de informação que necessitam do auxílio de técnicas quimiométricas para extrair toda a informação possível. Um dos métodos estatísticos muito utilizados para controlar o processamento de polpas, evitando ou diminuindo perdas, e a possibilidade de fraudes é a carta de controle. Cartas de controle são utilizadas para monitorar certas variáveis chave para o processo e detectar a presença de algum evento específico que cause alterações ao produto final (MACGREGOR; KOURTI, 1995).

Algumas cartas de controle multivariadas são baseadas em diversas análises quimiométricas, como a análise de componentes principais (PCA), a regressão por quadrados mínimos parciais (PLS), a média móvel ponderada exponencial multivariada (MEWMA), o sinal analítico líquido (NAS), entre outras. A principal aplicação das cartas de controle multivariadas é na construção de um modelo empírico através de um conjunto de medidas obtidas nas condições normais de operação. Os limites de confiança são calculados após a construção do modelo e, a partir deles, é possível identificar amostras que estão ou não “sob controle” quando considerado a concentração do parâmetro analítico escolhido (COSTA et al., 2014).

3. QUALIDADE NUTRICIONAL DE POLPAS DE FRUTA

O ácido ascórbico é naturalmente presente em frutas e vegetais. O L-ácido ascórbico, forma reduzida da vitamina C, é uma das vitaminas solúveis mais importantes que apresenta atividade antioxidante devido a sua alta capacidade de doar elétrons. É amplamente aplicado como aditivo alimentício por diminuir a velocidade de reações oxidativas em lipídios, proteínas e ácidos nucleicos (VALENTE et al., 2011).

Diversas frutas são consideradas como fonte de ácido ascórbico, como os cítricos (laranja, limão, tangerina, entre outros), o morango, o kiwi, o goji berry, o caju e a goiaba. (SEPTEMBRE-MALATERRE; REMIZE; POUCHERET, 2018). As duas frutas de maior teor em ácido ascórbico são o camu-camu e a acerola, apresentando cerca de 10g e 1g de ácido ascórbico por 100g de polpa de fruta, respectivamente (CUNHA-SANTOS et al., 2019).

A vitamina C pode ocorrer na natureza sob duas formas ativas (ácidos ascórbico e dehidroascórbico) e uma forma inativa (ácido dicetogulônico), sendo que em condições adversas as formas ativas podem se interconverter à forma inativa. Diversos são os fatores que podem causar uma instabilidade na estrutura das formas ativas da vitamina C tornando inativa e são: temperatura de processamento e/ou de armazenamento, oxidação pelo oxigênio dissolvido no meio, pH e teor de sólidos solúveis (DE CASTRO, 2005; DE OLIVEIRA; DE ALMEIDA, 2006). O processamento de alimentos ricos em vitamina C pode ser o responsável pela diminuição significativa do teor desse bioativo, uma vez que o tratamento térmico a tempos mais consideráveis, como a pasteurização, pode causar a inativação da vitamina. Além disso, o armazenamento a frio por congelamento pode também causar perdas no teor de vitamina C (SEBASTIANY et al., 2009; YAMASHITA et al., 2003).

Os principais métodos para determinação dessa vitamina são os métodos cromatográficos e titulométricos, sendo o método oficial para a determinação de ácido ascórbico em alimentos o método da AOAC, que determina a reação de redução do 2,6-diclorofenol-indofenol. Para a sua execução, esses métodos necessitam de diversos reagentes/solventes tóxicos ao meio ambiente e causadores de riscos operacionais (IGNAT et al., 2012a).

Baseando-se nos métodos oficiais da AOAC, verifica-se que a determinação de alguns parâmetros do PIQ pode ser demorada, quando considerado tempo de preparo de soluções e amostras, além do tempo de análise em si. Fora o tempo necessário para a análise dos parâmetros, muitos deles geram diversos tipos de resíduos tóxicos e, muitas vezes, em quantidades consideráveis (AOAC, 1999). A tabela 2 indica os parâmetros do PIQ que mais demandam tempo na sua determinação e/ou geram resíduos diversos em grande quantidade ou não.

Parâmetro	Tempo de análise	Resíduos gerados (V/amostra)
Acidez total	1 a 2 horas	Hidróxido de sódio (25 a 50mL)
Ácido ascórbico	1 hora	Ácido oxálico (10 a 50mL) Diclorofenol indofenol (variável)
Açúcares totais	1 a 2 horas	Sulfato de cobre (15mL) Tartarato de sódio e potássio (15mL) Acetato de zinco (5mL) Ferrocianato de potássio (5mL)
Sólidos totais	6 a 12 horas*	-

* Varia de acordo com o teor de água na amostra.

4. A ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO NA ANÁLISE DE ALIMENTOS

A espectroscopia no IV é um tipo de espectroscopia vibracional que se localiza no espectro magnético entre as regiões do visível e das micro-ondas. A energia infravermelha corresponde aos números de onda na faixa de 10.000 a 100 cm^{-1} , sendo as porções mais aplicadas em alimentos nas faixas de 10.000 a 4.000 cm^{-1} , chamada de infravermelho próximo (*near infrared* – NIR), e de 4.000 a 400 cm^{-1} , chamada de infravermelho médio (*mid infrared* – MIR) (PASQUINI, 2003). As interações desta radiação eletromagnética com moléculas orgânicas permitem obter um espectro que contém informação qualitativa e quantitativa sobre os constituintes da amostra, gerando um espectro de alta complexidade.

As aplicações da espectroscopia no NIR são variadas e são rotineiramente utilizadas na agricultura e produtos alimentícios. O método tem sido largamente aceito e é comumente utilizado para avaliar a qualidade de alimentos e bebidas. A espectroscopia no NIR tem sido aplicada para diferenciação de micro-organismos como *Escherichia coli* e *Salmonella* sp. em polpas de abacaxi, na avaliação de características de qualidade (sólidos solúveis e firmeza da polpa) de diferentes frutas, na determinação de, ou ainda na estimativa da umidade de polpa de frutas (BAG; SRIVASTAV; MISHRA, 2011; BARTHUS; POPPI, 2002; DAVEY et al., 2009; MACHADO et al., 2012; MARQUES et al., 2013; NICOLAÏ et al., 2007; PISSARD et al., 2013; TORRES et al., 2015).

Assim como no caso do NIR, a espectroscopia MIR vem sendo cada vez mais aplicada na análise de alimentos e bebidas, seja na quantificação de macronutrientes, como as fibras dietéticas (BEREZIN et al., 2017), compostos bioativos, como antocianinas e vitamina C e sua capacidade antioxidante (CARAMÊS et al., 2016; DE OLIVEIRA et al., 2014).

As principais vantagens de se utilizar a espectroscopia no NIR é que necessita de um mínimo preparo de amostra, são análises rápidas, a amostra é preservada e a penetração da radiação infravermelha próxima é muito mais profunda do que a radiação infravermelha média (NILSON, 2012). Em contrapartida, o espectro MIR apresenta uma região chamada *fingerprint*, a qual está relacionada com alongamentos C-O, C-C, C-O-C e C-O-H que estão associados aos carboidratos, ésteres e ácidos orgânicos presentes nos alimentos e facilitam

a diferenciação entre os espectros para cada tipo de produto (CARAMÊS et al., 2016). Além disso, análises por NIR permitem avaliar diversos constituintes da amostra ao mesmo tempo e não necessitam da aplicação de reagentes ou solventes. A técnica analítica de espectroscopia no NIR pode ser enquadrada na química analítica verde por se encaixar em vários dos seus doze princípios (GAŁUSZKA; MIGASZEWSKI; NAMIEŚNIK, 2013).

Considerando suas características específicas, as diferentes técnicas no infravermelho (MIR e NIR) podem apresentar diferentes aplicações, uma vez que o espectro mais simples de MIR pode facilitar a análise de compostos específicos e o espectro mais robusto de NIR pode indicar informações mais complementares, sendo então comumente realizadas e comparadas. Entretanto, a combinação dos espectros MIR e NIR já vem sendo explorada em alguns estudos (LI; ZHANG; WANG, 2018; RAKHA et al., 2019), já que essa combinação pode gerar informações sinérgicas e complementares, as quais não poderiam ser obtidas a partir de apenas uma técnica.

Devido à grande complexidade dos espectros da espectroscopia no infravermelho de produtos alimentícios é necessária a aplicação de ferramentas matemáticas e/ou estatísticas para a extração das informações adequadas para a análise. Nesse contexto entra a quimiometria e seus diversos métodos e algoritmos para analisar os espectros dos alimentos.

As determinações analíticas no infravermelho são baseadas em relações matemáticas estabelecidas entre o espectro inteiro da amostra e concentrações medidas por métodos de referência ou na comparação de espectros de diferentes tipos de amostras para a verificação da formação de grupos. Essa relação matemática é obtida através da quimiometria, que consiste no uso de ferramentas estatísticas, matemáticas e gráficas para resolver sistemas químicos, utilizada tanto no planejamento e otimização de experimentos quanto na análise multivariada de resultados (FERREIRA, 2015).

Dentre as principais aplicações da espectroscopia no infravermelho em alimentos encontra-se a quantificação de compostos e essa quantificação pode auxiliar na verificação de parâmetros de identidade e qualidade para diferentes produtos. Nesse caso, os espectros são analisados via calibração multivariada pelas ferramentas quimiométricas, sendo criados modelos matemáticos que consideram cada número de onda como uma variável responsável pelo teor de um composto ou classe de compostos. Diversos métodos de regressão podem ser aplicadas para quantificar um composto através de modelos PLSR (*Partial Least Squares Regression*), PCR (*Principal Component Regression*), MLR (*Multiple Linear Regression*), entre outros (BOTELHO; MENDES; SENA, 2012).

Além da quantificação através da aplicação de modelos de calibração multivariada, existem os métodos quimiométricos não-supervisionados e supervisionados para a realização da qualificação de diferentes produtos. O método não-supervisionado mais

aplicado na classificação de amostras é a Análise de Componentes Principais (*Principal Component Analysis* – PCA). Modelos PCA de classificação podem criar cartas de controle multivariadas aplicadas no controle de qualidade de diversos setores industriais, seja químico (SITOE et al., 2016) ou alimentício (LOBATO et al., 2018), sendo os dois principais tipos de carta de controle criadas a partir dos valores de T^2 de Hotelling ou de Q residual de modelos PCA (BORIN; POPPI, 2004). Já os métodos supervisionados mais aplicados são os modelos de classificação PLS-DA (*Partial Least Squares – Discriminant Analysis*), SIMCA (*Soft Independent Modeling of Class Analogy*) e k-NN (*k-Nearest Neighbor*). Nesse tipo de análise, é importante que as classes de amostras sejam conhecidas a fim de criar modelos robustos que possam classificar amostras desconhecidas a esse conjunto de dados. Modelos PLS-DA são baseados no método de regressão PLS com uma modificação no modo de apresentação das variáveis dependentes; já modelos SIMCA são criados a partir de análise de componentes principais realizadas para cada classe; enquanto isso, modelos k-NN consideram a proximidade entre as amostras (medidas através de distâncias como a Euclidiana e a de Mahalanobis) (FERREIRA, 2015).

Ferramentas quimiométricas auxiliaram na quantificação de sólidos solúveis em maracujá e polpa de goiaba, jaboticaba e maçãs (DE OLIVEIRA et al., 2014; MARIANI et al., 2014; MØLLER et al., 2013), vitamina C em pimentões, maracujá e maçãs (CONTRERAS-CALDERÓN et al., 2011; IGNAT et al., 2012b; PISSARD et al., 2013), antocianinas e compostos fenólicos em suco de uva (CARAMÊS et al., 2016) e ainda na quantificação de parâmetros do PIQ de néctar de caju e goiaba (CARAMÊS et al., 2017).

Além da aplicação em calibração, a espectroscopia no infravermelho, juntamente com análises quimiométricas, pode também ser aplicada em modelos de classificação, organizando as amostras em grupos de acordo com suas semelhanças (FERREIRA, 2015). Modelos quimiométricos de classificação são muito aplicados na verificação de autenticidade de produtos alimentícios como o açaí, óleo de nozes e óleo de coco virgem (LI et al., 2015; LOBATO et al., 2018; MAN; ROHMAN, 2015) ou na detecção de adulteração ou fraude de produtos como vitela, mel e orégano (BÁZÁR et al., 2016; BLACK et al., 2016; SCHMUTZLER et al., 2015).

A quimiometria pode auxiliar também na aplicação de espectros infravermelho para a criação de cartas de controle de qualidade. Alguns estudos já foram realizados para o controle de qualidade de açaí liofilizado, na avaliação da qualidade de trigo, azeitonas e azeite de oliva, ou ainda, em medicamentos como a rifampicina (COSTA et al., 2014; DELGADILLO; BARROS; NUNES, 2012; LOBATO et al., 2018; POJIĆ; MASTILOVIĆ; MAJCEN, 2012).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAMAR, P. D. et al. Quality evaluation of frozen guava and yellow passion fruit pulps by NIR

spectroscopy and chemometrics. **Food Research International**, v. 85, p. 209–214, 2016.

ALMEIDA, M. M. B. et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2155–2159, 2011.

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 17th. ed. Maryland, USA: [s.n.]. v. 64

BAG, S. K.; SRIVASTAV, P. P.; MISHRA, H. N. FT-NIR spectroscopy: a rapid method for estimation of moisture content in bael pulp. **British Food Journal**, v. 113, n. 4–5, p. 494–504, 2011.

BARTHUS, R. C.; POPPI, R. J. Multivariate Quality Control Applied to Detect the Soybean Oil Oxidation Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy. **Spectroscopy Letters**, v. 35, n. 5, p. 729–739, jan. 2002.

BÁZÁR, G. et al. NIR detection of honey adulteration reveals differences in water spectral pattern. **Food Chemistry**, v. 194, p. 873–880, mar. 2016.

BEREZIN, K. V. et al. FT-IR and DFT study of lemon peel. n. March, p. 103360I, 2017.

BLACK, C. et al. A comprehensive strategy to detect the fraudulent adulteration of herbs: The oregano approach. **Food Chemistry**, v. 210, p. 551–557, nov. 2016.

BORIN, A.; POPPI, R. J. Multivariate quality control of lubricating oils using Fourier transform infrared spectroscopy. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 4, p. 570–576, ago. 2004.

BOTELHO, B. G.; MENDES, B. A. P.; SENA, M. M. Development and Analytical Validation of Robust Near-Infrared Multivariate Calibration Models for the Quality Inspection Control of Mozzarella Cheese. **Food Analytical Methods**, v. 6, n. 3, p. 881–891, set. 2012.

BRASIL. **Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta** Instrução Normativa Nº 01, de 07 de janeiro de 2000, , 2000.

CARAMÊS, E. T. S. et al. Rapid Assessment of Total Phenolic and Anthocyanin Contents in Grape Juice Using Infrared Spectroscopy and Multivariate Calibration. **Food Analytical Methods**, p. 1–7, nov. 2016.

CARAMÊS, E. T. S. et al. Quality control of cashew apple and guava nectar by near infrared spectroscopy. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 56, p. 41–46, mar. 2017.

CONTRERAS-CALDERÓN, J. et al. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2047–2053, 2011.

CORRÊA, L. C. et al. Antioxidant content in guava (*Psidium guajava*) and araçá (*Psidium* spp.) germplasm from different Brazilian regions. **Plant Genetic Resources: Characterisation and Utilisation**, v. 9, n. 3, p. 384–391, 2011.

COSTA, D. O.; CARDOSO, G. R.; SILVA, G. M. V. A evolução do setor produtivo e comercialização de polpa de fruta no Brejo Paraibano: Estudo de caso na COAPRODES. **XXXIII ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO**, p. 1–16, 2013.

COSTA, F. S. L. et al. Multivariate Control Charts for Simultaneous Quality Monitoring of Isoniazid and Rifampicin in a Pharmaceutical Formulation Using a Portable Near Infrared Spectrometer. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 1, p. 64–73, 2014.

CUNHA-SANTOS, E. C. E. et al. Vitamin C in camu-camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh]: evaluation of extraction and analytical methods. **Food Research International**, v. 115, n. April 2018, p. 160–166, 2019.

- DA SILVA, M. J. R. et al. Fenologia, produção e qualidade de frutos da goiabeira 'Paluma' em diferentes épocas de poda. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 40, n. 3, p. 317–325, 2016.
- DAVEY, M. W. et al. Application of Visible and Near-Infrared Reflectance Spectroscopy (Vis/NIRS) to Determine Carotenoid Contents in Banana (*Musa spp.*) Fruit Pulp. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 5, p. 1742–1751, mar. 2009.
- DE CASTRO, M. R. S. **Cinética da degradação do ácido ascórbico em polpas de frutas congeladas**. [s.l.] Universidade Federal de Pernambuco, 2005.
- DE OLIVEIRA, E. M. B.; DE ALMEIDA, R. F. Estabilidade Do Ácido Ascórbico Em Suco De Caju Em Função Da Temperatura , Dulcificação E Tempo De Estocagem. 2006.
- DE OLIVEIRA, G. A. et al. Comparison of NIRS approach for prediction of internal quality traits in three fruit species. **Food Chemistry**, v. 143, p. 223–230, jan. 2014.
- DE OLIVEIRA, L. F.; NASCIMENTO, M. R. F.; BORGES, S. V. Aproveitamento da casca do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* F. FLAVICARPA) para produção de doce em calda. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 22, n. 3, p. 259–262, 2002.
- DELGADILLO, I.; BARROS, A.; NUNES, A. Quality Evaluation of Olives, Olive Pomace and Olive Oil by Infrared Spectroscopy. In: **Olive Oil - Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions**. [s.l.] InTech, 2012.
- FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria: Conceitos, Métodos e Aplicações**. 1ª Edição ed. [s.l.] Editora UNICAMP, 2015.
- GAŁUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z.; NAMIEŚNIK, J. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 50, p. 78–84, 2013.
- IGNAT, T. et al. **Non-destructive measurement of ascorbic acid content in bell peppers by VIS-NIR and SWIR spectrometry**. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925521412001524>>. Acesso em: 15 out. 2015a.
- IGNAT, T. et al. Non-destructive measurement of ascorbic acid content in bell peppers by VIS-NIR and SWIR spectrometry. **Postharvest Biology and Technology**, v. 74, p. 91–99, dez. 2012b.
- LI, B. et al. Rapid detection of authenticity and adulteration of walnut oil by FTIR and fluorescence spectroscopy: A comparative study. **Food Chemistry**, v. 181, p. 25–30, 2015.
- LI, Y.; ZHANG, J. Y.; WANG, Y. Z. FT-MIR and NIR spectral data fusion: a synergetic strategy for the geographical traceability of *Panax notoginseng*. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 410, n. 1, p. 91–103, 2018.
- LIM, Y. Y.; LIM, T. T.; TEE, J. J. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. **Food Chemistry**, v. 103, n. 3, p. 1003–1008, 2007.
- LOBATO, K. B. DE S. et al. Authenticity of freeze-dried açai pulp by near-infrared spectroscopy. **Journal of Food Engineering**, v. 224, p. 105–111, 2018.
- LOHUMI, S. et al. A review of vibrational spectroscopic techniques for the detection of food authenticity and adulteration. **Trends in Food Science & Technology**, v. 46, n. 1, p. 85–98, nov. 2015.
- LULIA, M. M. E. T. et al. Produção Agrícola Municipal. **INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA -IBGE**, v. 43, 2016.
- MACGREGOR, J. F.; KOURTI, T. Statistical process control of multivariate processes.

Control Engineering Practice, v. 3, n. 3, p. 403–414, 1 mar. 1995.

MACHADO, N. P. et al. Pear quality characteristics by Vis / NIR spectroscopy. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 84, n. 3, p. 853–863, set. 2012.

MAN, Y. B. C.; ROHMAN, A. Analysis of Canola Oil in Virgin Coconut Oil Using FTIR Spectroscopy and Analysis of Canola Oil in Virgin Coconut Oil Using FTIR Spectroscopy and Chemometrics. n. October, 2015.

MARIANI, N. C. T. et al. Predicting soluble solid content in intact jaboticaba [Myrciaria jaboticaba (Vell.) O. Berg] fruit using near-infrared spectroscopy and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 159, p. 458–462, set. 2014.

MARQUES, A. DE S. et al. The use of near infrared spectroscopy and multivariate techniques to differentiate Escherichia coli and Salmonella Enteritidis inoculated into pulp juice. **Journal of Microbiological Methods**, v. 93, n. 2, p. 90–94, 1 maio 2013.

MELO, E. D. A. et al. Teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante de polpas congeladas de frutas. **Alimentos e Nutrição**, v. 19, n. 1, p. 67–72, 2008.

MØLLER, S. M. et al. Prediction of postharvest dry matter, soluble solids content, firmness and acidity in apples (cv. Elshof) using NMR and NIR spectroscopy: a comparative study. **European Food Research and Technology**, v. 237, n. 6, p. 1021–1024, set. 2013.

NASCIMENTO, C. R. et al. Avaliação da qualidade de polpas de frutos industrializadas e comercializadas no município de Boa Vista – RR. **REVISTA AGRO@MBIENTE ON-LINE**, v. 6, n. 3, p. 263, 31 dez. 2012.

NICOLAÏ, B. M. et al. Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review. **Postharvest Biology and Technology**, v. 46, n. 2, p. 99–118, nov. 2007.

NILSON, R. **Applications of Near Infrared Spectroscopic Analysis in the Food Industry and**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <[http://www.foodsafetycentre.com.au/docs/Applications of Near Infrared Spectroscopic Analysis in the Food Industry and Research.pdf](http://www.foodsafetycentre.com.au/docs/Applications%20of%20Near%20Infrared%20Spectroscopic%20Analysis%20in%20the%20Food%20Industry%20and%20Research.pdf)>. Acesso em: 22 jun. 2018.

PASQUINI, C. Near infrared spectroscopy: Fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 2, p. 198–219, abr. 2003.

PISSARD, A. et al. Non-destructive measurement of vitamin C, total polyphenol and sugar content in apples using near-infrared spectroscopy. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 2, p. 238–244, jan. 2013.

POJIĆ, M.; MASTILOVIĆ, J.; MAJCEN, N. The Application of Near Infrared Spectroscopy in Wheat Quality Control. In: **Infrared Spectroscopy - Life and Biomedical Sciences**. [s.l.] InTech, 2012.

RAKHA, A. et al. Total polyphenol quantitation using integrated NIR and MIR spectroscopy: A case study of Chinese dates (Ziziphus jujuba) . **Phytochemical Analysis**, n. June 2018, p. 1–7, 2019.

RAWSON, A. et al. Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: Review of recent advances. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1875–1887, 2011.

SCHMUTZLER, M. et al. Methods for detection of pork adulteration in veal product based on FT-NIR spectroscopy for laboratory, industrial and on-site analysis. **Food Control**, v. 57, p. 258–267, nov. 2015.

SEBASTIANY, E. et al. Perda de vitamina C durante o armazenamento de polpa de acerola

congelada. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 281–288, 2009.

SEPTEMBRE-MALATERRE, A.; REMIZE, F.; POUCHERET, P. Fruits and vegetables, as a source of nutritional compounds and phytochemicals: Changes in bioactive compounds during lactic fermentation. **Food Research International**, v. 104, p. 86–99, 1 fev. 2018.

SITOE, B. V. et al. Quality Control of Biodiesel Content of B7 Blends of Methyl Jatropha and Methyl Crambe Biodiesels Using Mid-Infrared Spectroscopy and Multivariate Control Charts Based on Net Analyte Signal. **Energy and Fuels**, v. 30, n. 2, p. 1062–1070, 2016.

TEIXEIRA, M.; MONTEIRO, M. Degradação Da Vitamina C Em Suco De Fruta. **Alimentos e Nutrição**, v. 17, n. 2, p. 219–227, 2006.

TORRES, I. et al. Fast and accurate quality assessment of Raf tomatoes using NIRS technology. **Postharvest Biology and Technology**, v. 107, p. 9–15, set. 2015.

VALENTE, A. et al. Ascorbic acid content in exotic fruits: A contribution to produce quality data for food composition databases. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2237–2242, 1 ago. 2011.

VIANNA-SILVA, T. et al. Qualidade do suco de maracujá-amarelo em diferentes épocas de colheita Quality of the juice of yellow passion fruit in different harvest seasons. v. 28, n. 1910, p. 545–550, 2008.

YAMASHITA, F. et al. Produtos de acerola: estudo da estabilidade de vitamina C. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 1, p. 92–94, 2003.

ZIETEMANN, C.; ROBERTO, S. R. Produção de mudas de goiabeira (*Psidium guajava* L.) em diferentes substratos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 1, p. 137–142, abr. 2007.

CAPÍTULO III

Quality evaluation of frozen guava and yellow passion fruit pulps by NIR spectroscopy and chemometrics

Priscila D. Alamar, Elem T. S. Caramês, Ronei J. Poppi, Juliana A. L. Pallone

Department of Food Science, School of Food Engineering, University of Campinas, Monteiro Lobato Street, 80, Zip Code: 13083-862, Campinas, São Paulo, Brazil.
Institute of Chemistry, University of Campinas, 13083-970, Campinas, S.P, Brazil.

Artigo publicado com acesso livre (*open access*) em *Food Research International*

Reprinted from Alamar P.D., Caramês E.T.S., Poppi R.J., Pallone J.A.L. Quality evaluation of frozen guava and yellow passion fruit pulps by NIR spectroscopy and chemometrics. *Food Research International*, v. 85, p. 209–214, 2016.



Contents lists available at ScienceDirect

Food Research International

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodres

Quality evaluation of frozen guava and yellow passion fruit pulps by NIR spectroscopy and chemometrics

Priscila D. Alamar^{a,*}, Elem T.S. Caramês^a, Ronei J. Poppi^b, Juliana A.L. Pallone^a^a Department of Food Science, School of Food Engineering, University of Campinas, Monteiro Lobato Street, 80, 13083-862, Campinas, São Paulo, Brazil^b Institute of Chemistry, University of Campinas, 13083-970, Campinas, S.P, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 25 February 2016

Received in revised form 21 April 2016

Accepted 24 April 2016

Available online 30 April 2016

Keywords:

Frozen pulps

Water adulteration

Chemometrics

PLS regression

NIR spectroscopy

ABSTRACT

The present study investigated the application of near infrared spectroscopy as a green, quick, and efficient alternative to analytical methods currently used to evaluate the quality (moisture, total sugars, acidity, soluble solids, pH and ascorbic acid) of frozen guava and passion fruit pulps. Fifty samples were analyzed by near infrared spectroscopy (NIR) and reference methods. Partial least square regression (PLSR) was used to develop calibration models to relate the NIR spectra and the reference values. Reference methods indicated adulteration by water addition in 58% of guava pulp samples and 44% of yellow passion fruit pulp samples. The PLS models produced lower values of root mean squares error of calibration (RMSEC), root mean squares error of prediction (RMSEP), and coefficient of determination above 0.7. Moisture and total sugars presented the best calibration models (RMSEP of 0.240 and 0.269, respectively, for guava pulp; RMSEP of 0.401 and 0.413, respectively, for passion fruit pulp) which enables the application of these models to determine adulteration in guava and yellow passion fruit pulp by water or sugar addition. The models constructed for calibration of quality parameters of frozen fruit pulps in this study indicate that NIR spectroscopy coupled with the multivariate calibration technique could be applied to determine the quality of guava and yellow passion fruit pulp.

© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

World fruit production is constantly growing. Brazil is the third largest fruit producer, along with China and India, producing 42.6 million tons per 2.5 million hectares distributed across the country (Retamales, 2011; Embrapa, 2003). Various types of fruits are produced in Brazil, as oranges, bananas, pineapples, grapes, guava, passion fruit, among others (IBRAF, 2009). Fruits like guava and passion fruit are used in the production of various products such as frozen pulp, jams, concentrated juices, and nectars (Cunha, 2013; Zietemann & Roberto, 2007).

Frozen pulp is one of the major industrial products from Brazilian fruits. Brazil (2000) regulates the identity and quality patterns (IQP, Table 1), as well as defines fruit pulp as the unfermented, not concentrated, undiluted product, obtained from fleshy fruits, through a technical process, with a minimum content of total solids, from the edible part of the fruit. Countries like Colombia, Chile, Mexico, and United Kingdom also determine definitions and quality patterns for fruit pulps production (as minimum values to acidity, soluble solids, or microbiological requirements), to ensure final product quality (Colombia, 1991; Jukes, 1997; Mexico, 2009; Nicaragua, 2013). These definitions became more required since the industrial production of fruit pulp has grown in

many countries around the world, such as in the United States where production has grown at 1.3% rate in the past five years. (IBISWorld, 2015).

In July 2015, two brands of frozen fruit pulp produced in the Brazilian state of Rio Grande do Norte had their commercialization suspended due to violation of Identity and Quality Patterns, even for having total solids content below the minimum allowed, indicating possible adulteration by water addition into the pulp (G1, 2015).

Most analytical methods applied to evaluate pulps quality require the use of at least one reagent and produce analytical wastes. Furthermore, operator safety is jeopardized, samples require pretreatment, and some methods require time- and cost-consuming. Green Analytical Chemistry is based on sustainable development and it aims at providing a laboratory practice more environmentally friendly (Gałuszka, Migaszewski, & Namieśnik, 2013). Near Infrared (NIR) spectroscopy is a nondestructive and green technique which requires a minimal sample preparation, it does not involve the use of reagents, in addition to being fast and inexpensive (Wang, Peng, Xie, Bao, & He, 2015).

A NIR spectrum is composed of a large amount of information (overtones and combination bands) that difficulties the evaluation of quality attributes of samples by visual inspection. Chemometrics (multivariate statistical techniques) assists the spectrum analysis, involving regression techniques (PLS, partial least squares; PCR, principal components regression; LS-SVM, least square support vector

* Corresponding author.

E-mail address: priscilaalamar@gmail.com (P.D. Alamar).

Table 1
Identity and quality patterns from guava and passion fruit pulps.

Analyzes	Guava		Passion fruit	
	Min.	Max.	Min.	Max.
Soluble solids, in °Brix (20 °C)	7.0	–	11.0	–
pH	3.5	4.2	2.7	3.8
Total acidity, in citric acid equivalent (g/100 g)	0.4	–	2.5	–
Ascorbic acid (mg/100 g)	40.0	–	–	–
Total sugars from the fruit, (g/100 g)	–	15.0	–	18.0
Total solids (g/100 g)	9.0	–	11.0	–

machine; MLR, multiple linear regression; ANN, artificial neural network; among others) and spectrum preprocessing (mean centering, smoothing, first derivative, e.g.) (Nicolai et al., 2007; Pissard et al., 2013).

Several studies have been performed applying NIR spectroscopy to evaluate quality attributes of fruits, as pear (soluble solids and firmness), passion fruit (soluble solids, titratable acidity, ascorbic acid content, ethanol concentration, peel firmness and pulp percentage), apple (firmness and soluble solids), plum (soluble solids and firmness), (Liu, Fu, & Cheng, 2007; Maniwaru et al., 2014; Mendoza, Lu, Ariana, Cen, & Bailey, 2011; Paz, Sanchez, Perez-Marin, Guerrero, & Garrido-Varo, 2008), or to quantify some parameters in guava (soluble solids) and bael (moisture) pulps (Bag, Srivastav, & Mishra, 2011; Devia et al., 2015).

In this context, the purpose of this work was to examine the feasibility of NIR spectroscopy, combined with chemometrics, to determine quality parameters (moisture, total sugars, acidity, soluble solids, pH and ascorbic acid) in frozen guava and passion fruit pulps.

2. Materials and methods

2.1. Samples

Fifty samples of yellow passion fruit frozen pulps and fifty samples of guava frozen pulps were collected in local markets of Belém/PA and Campinas/SP, Brazil. The samples were thawed and divided into two portions, one for chemical analysis and other for NIR spectroscopy. All the samples were stored at -18°C until the time of the analysis, and then all the samples were thawed and analyzed (NIR and reference methods).

2.2. Reference methods for chemical analysis

The parameters estimated were moisture, total sugars (TS), acidity, soluble solids (SS), pH, and ascorbic acid (AA). All the samples were analyzed in triplicate and the mean value was used in subsequent calculation.

Moisture content of samples was quantified indirectly, according to the loss of mass after drying at 105°C by the reference method 934.06 of the Official Methods of Analysis (AOAC, 1998).

Total Sugars content was measured titrimetrically by the reduction of copper by the reference method 923.09 of the Official Methods of Analysis (AOAC, 1998).

Acidity was determined titrimetrically (citric acid equivalent) by the reference method 942.15 of the Official Methods of Analysis (AOAC, 1998).

Soluble Solids were measured by refractometry by the reference method 932.12 of the Official Methods of Analysis (AOAC, 1998).

The pH of guava samples was determined by pHmeter by the reference method 981.12 of the Official Methods of Analysis (AOAC,

1998). The pH of samples of yellow passion fruit was calculated by the acidity content determined titrimetrically, by Eqs. (1) and (2).

$$\text{pH} = -\log[\text{H}^+] \quad (1)$$

$$[\text{H}^+] = \text{acidity} \times \alpha \quad (2)$$

where α = ionization constant of citric acid (8×10^{-4}).

Ascorbic acid content was measured titrimetrically by the reducing of 2,6-dichlorophenol indophenol by the reference method 967.21 of the Official Methods of Analysis (AOAC, 1998), with modifications (Benassi & Antunes, 1988).

2.3. Spectra acquisition

About 2 g of each sample was placed into a petri dish, the liquid reflector (Perkin Elmer-Waltham, USA, Part Number L118-0503) was placed on top of the sample and carefully pushed against the glass before scanning. Transflectance measurements were realized using near infrared reflectance accessory (Perkin Elmer-Waltham, USA, model NIRA) in spectrometer FT-NIR (Perkin Elmer-Waltham, USA, model Spectrum 100N) over the range of $10,000\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$. It was used 32 scans and spectral resolution of 4 cm^{-1} . Samples were scanned in triplicate and the average spectrum was used in subsequent calculation.

2.4. Chemometrics

The spectra were mean centered and pre-processed by Multiplicative Scatter Correction (MSC), Standard Normal Variate (SNV), and/or first derivative using Savitzky–Golay algorithm with smoothing window of 21 points and first order polynomial. The calibration spectra were subject to a partial least squares regression (PLSR) with leave-one-out cross validation (used to determine the number of latent variables (LV) in the final model, between five and eight). The original data set was randomly divided into two subsets: the calibration set containing 70% of the samples and the external validation set with the remaining 30% of samples. The PLSR calibration models performance was evaluated using the coefficient of determination (R^2), the root-mean-square error of calibration (RMSEC), and the root-mean-square error of prediction (RMSEP).

The samples determined as outliers were removed in order to improve the PLSR models quality. The outliers were detected analyzing the leverage and the Student residuals. PLSR models were calculated using the PLS-toolbox for Matlab version 5.2, USA (Eigenvector Research Inc., 2010).

Table 2
Determined parameters for guava and passion fruit pulps; number of samples in violation of the legislation (IQP).

	Range	Mean \pm SD	NIS
<i>Guava pulp</i>			
Moisture (%)	88.96–94.26	90.96 \pm 0.23	29 (>9%)
TS (%)	2.71–4.97	3.81 \pm 0.06	0 (<15%)
Acidity (%)	0.34–0.88	0.58 \pm 0.01	5 (>0.4%)
SS (°Brix)	5.27–10.13	6.76 \pm 0.05	30 (>7°B)
pH	3.48–4.06	3.79 \pm 0.03	0 ([3.5–4.2])
AA (mg/100 g)	3.58–60.00	24.03 \pm 0.54	48 (>40 mg/100 g)
<i>Passion fruit pulp</i>			
Moisture (%)	88.14–94.72	89.98 \pm 0.23	22 (>11%)
TS (%)	2.16–6.94	4.84 \pm 0.06	0 (<18%)
Acidity (%)	1.46–3.70	2.70 \pm 0.04	15 (>2.5%)
SS (°Brix)	4.46–13.13	10.05 \pm 0.06	34 (>11°B)
pH	2.53–2.93	2.68 \pm 0.01	23 ([2.7–3.8])
AA (mg/100 g)	0.30–11.76	6.03 \pm 0.30	–

SD: Standard deviation.

NIS: Number of irregular samples.

3. Results and discussion

3.1. Chemical analysis

Table 2 shows the results (range of values, mean, standard deviation, and coefficient of variation) for the six determined parameters (moisture, total sugars (TS), acidity, soluble solids (SS), pH and ascorbic acid (AA)), for guava and passion fruit samples, and the number of samples that are out of the interval established by the Brazilian legislation, presented in Table 1.

Samples that presented moisture content above 91% or 89% for guava and passion fruit pulps, respectively, may be considered adulterated by water addition. In this context, twenty-nine samples of guava pulp and twenty-two samples of yellow passion fruit pulp suffered water addition. This addition of water is performed in order to increase the yield of pulp, since they are marketed at a fixed weight packaging. In addition to increase moisture from the pulp, water addition is also responsible for the dilution of sugars, acids, and other constituents of the fruit pulp.

Among the parameters studied, almost all the samples analyzed presented ascorbic acid content lower than the minimum allowed (40 mg/100 g). Ascorbic acid is a labile molecule and may suffer degradation by many factors such as concentration, oxygen, light, pressure, temperature, metal ions, sugars, and pH. In this context, industrial processing and storage may be the responsible of low ascorbic acid concentration in guava pulp (Munyaka, Makule, Oey, Loey, & Hendrickx, 2010), as well as the water addition in adulterated pulps.

3.2. PLSR calibration and prediction results

Fig. 1 shows the original NIR absorbance spectra (10,000–4000 cm^{-1}) for guava and passion fruit, respectively. Passion fruit pulp spectra showed light scattering, due to the particles presented in the samples, that was removed by SNV application. Guava pulp spectra also showed light scattering, and baseline offset that were corrected by MSC and first derivative procedures (Table 3).

After corrections related to the light scattering and the baseline offset, it was found that the final part of the spectra (for all parameters) difficulties the modeling of data and did not present a good signal/noise, ratio, for this reason they has been removed. The initial part of the spectra data used in TS calibration only refers to baseline, to improve the model this part was removed, in others parameters the presence or not of this section of the spectra was not significant to improve the final model. The portion of the spectrum (5285–4983 cm^{-1}) removed for calibration of ascorbic acid represents the absorption band of

Table 3

Preprocessing and wavenumber range from spectral data of guava and passion fruit pulps.

Preprocessing		Wavenumber range
<i>Guava pulp</i>		
Moisture		10,000–4477
TS		7366–4201
Acidity	1st derivative + MSC + mean center	10,000–4491
SS		10,000–4491
AA		10,000–5286; 4982–4491
<i>Passion fruit pulp</i>		
Moisture		10,000–4505
TS		10,000–4000
Acidity	SNV + mean center	10,000–4491
SS		10,000–4505
pH		10,000–4491

water. The guava pulp samples have about 90% of moisture in its constitution, therefore, the band of water found in the spectra of the samples, showed a very high absorbance, which negatively influenced the parameter calibration in question. Therefore, the portion relating to the band water was removed from the calculations. Núñez-Sánchez et al. (2016) discovered the same interference caused by water bands and the same strategy (water band removal) was used by Xie, Ye, Liu, and Ying (2009) to solve this problem.

Calibration models for moisture, TS, acidity, SS, pH and AA were developed with the use of PLS regression. The models created were evaluated by R^2 (both calibration and validation), number of LV, RMSEC, and RMSEP and they are presented in Table 4.

All models showed coefficient of determination of calibration above 0.7. Moisture content for both pulps presented RMSEP = 0.4% or less and R^2_{val} next to 0.93. Bag et al. (2011) and Torres, Perez-Marín, De la Haba, and Sanchez (2015) found a RMSEP around 0.5% for bael pulp ($R^2_{\text{val}} = 0.97$) and raf tomato moisture, respectively, that qualifies the models (Fig. 2A and 2C) developed in this study to be used to quantify moisture in guava and passion fruit pulps.

Errors for TS models (Fig. 2B and 2D) were similar to moisture content, with RMSEP values between 0.2–0.4% and R^2_{val} between 0.70–0.90, for guava and passion fruit, respectively. Torres et al. (2015) studied glucose and fructose in raf tomatoes and determined RMSEP values around 2, and Oliveira, Castilhos, Renard, and Bureau (2014) found a RMSEP of 5.026% and $R^2_{\text{val}} = 0.83$ to total sugars in passion fruit. Both errors are higher than those found in this study and R^2 for passion fruit pulp was higher than that found by Oliveira et al. (2014).

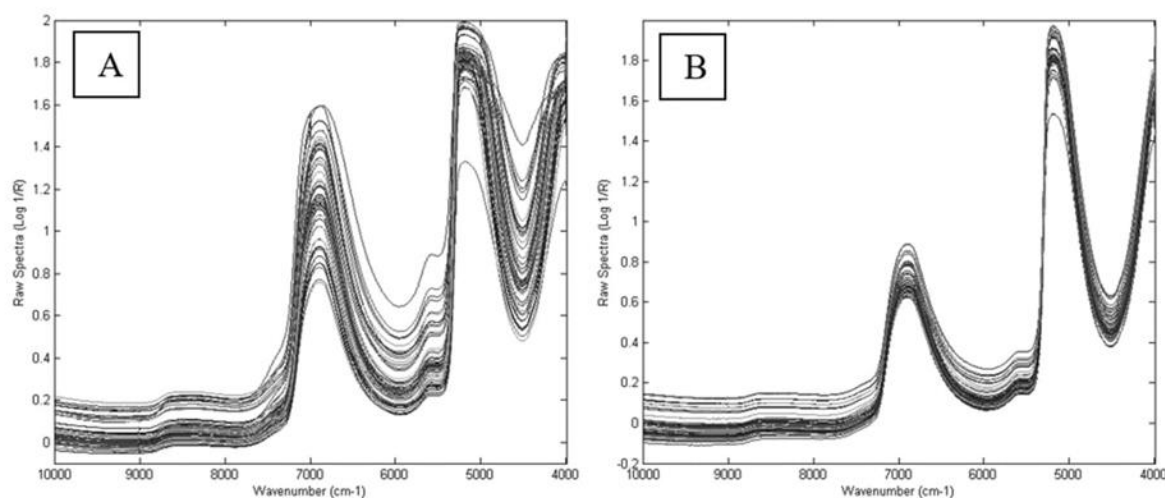


Fig. 1. Near Infrared spectra of (A) Guava pulp and (B) Passion fruit pulp.

Table 4
PLS results for moisture, TS, acidity, SS, AA and pH of guava and passion fruit pulps.

	N	LV	RMSEC	R ² _{cal}	RMSEP	R ² _{val}
<i>Guava pulp</i>						
Moisture (%)	50	7	0.442	0.87	0.240	0.94
TS (%)	45	7	0.133	0.95	0.269	0.72
Acidity (%)	41	8	0.044	0.93	0.067	0.79
SS (°Brix)	45	6	0.371	0.89	0.689	0.66
AA (mg/100 g)	45	7	3.195	0.94	6.137	0.85
<i>Passion fruit pulp</i>						
Moisture (%)	48	6	0.529	0.88	0.401	0.93
TS (%)	50	6	0.434	0.85	0.413	0.90
Acidity (%)	50	7	0.206	0.85	0.343	0.59
SS (°Brix)	50	6	0.779	0.82	0.846	0.54
pH	48	6	0.039	0.81	0.059	0.61

N: total of samples.

R²_{cal}: coefficient of determination of calibration.

R²_{val}: coefficient of determination of validation.

Acidity prediction model for passion fruit showed RMSEP = 0.343% and R²_{val} = 0.59, five times higher than the error for guava (R²_{val} = 0.79). However, passion fruit presents a greater range of values for acidity. Torres et al. (2015) and Maniwaru et al. (2014) found RMSEP = 0.26% and R²_{val} = 0.56 in raf tomatoes and passion fruit, respectively, values that are similar to those found in guava e passion fruit. Despite the small range found for the acidity of guava pulp, the constructed model for this parameter presented lower errors than the acidity of passion fruit pulp analyzed in this study and raf tomato and passion fruit analyzed by Torres et al. (2015) and Maniwaru et al. (2014).

SS content for guava and passion fruit presented RMSEP values between 0.65 and 0.85°Brix and R²_{val} around 0.60, with six LV. These errors are similar to ones found by Gutiérrez Devia et al. (2015); Mariani et al. (2014), and Møller, Travers, Bertram, and Bertelsen (2013) for guava pulp, jaboticaba and apple (RMSEP of 0.4, 1.33, and 0.7°Brix; and R²_{val} of 0.97, 0.71, and 0.82, respectively). Errors obtained in this work qualifies those models to quantify soluble solids in frozen guava and passion fruit pulps.

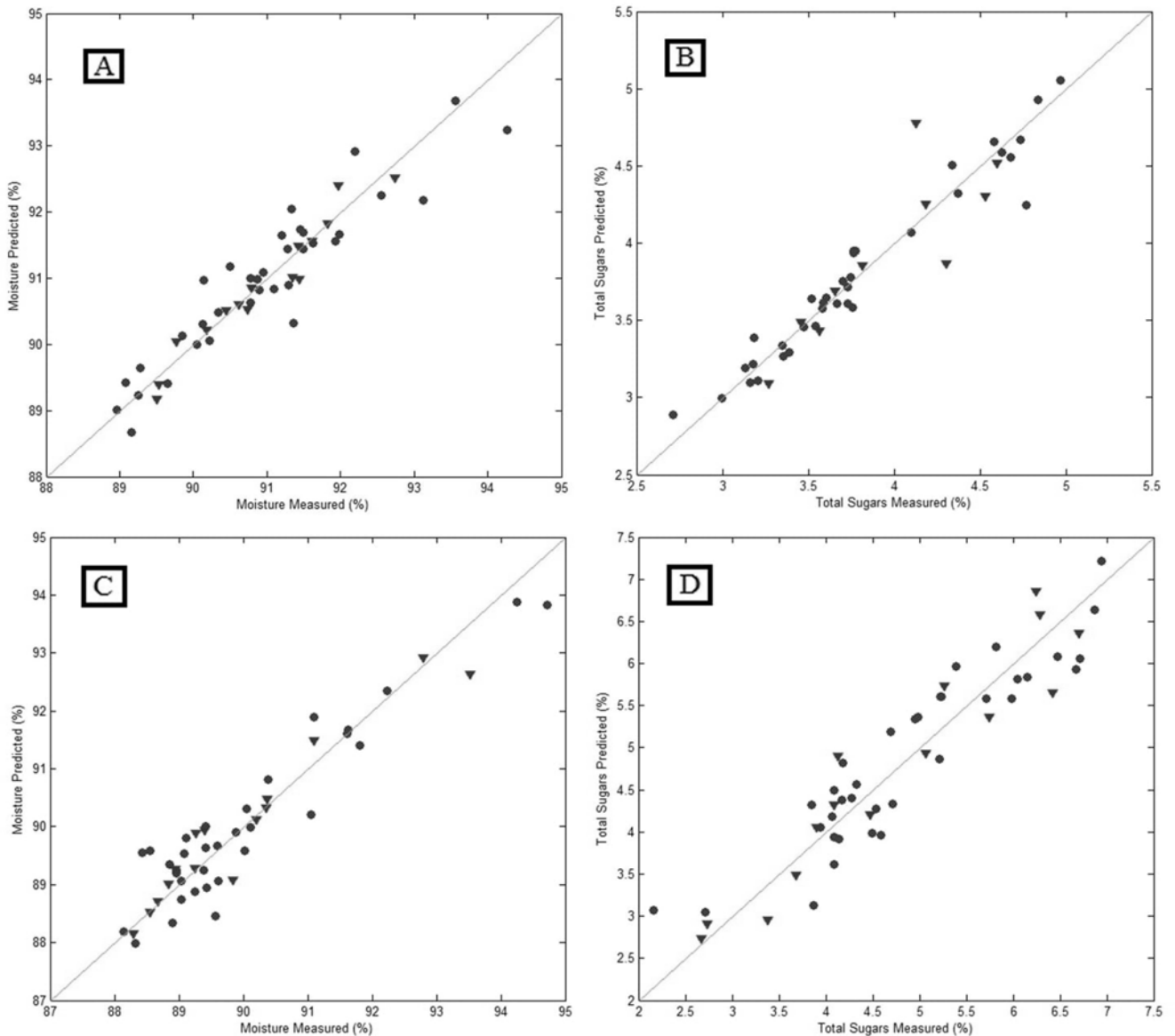


Fig. 2. Measured vs. Predicted values for guava pulp (A) moisture and (B) TS; passion fruit (C) moisture, and (D) TS. (●: calibration set; ▼: prediction set).

For the pH parameter, it was not possible to build a reliable calibration model, preventing the selection of a model for estimation of pH for frozen guava pulps. The values obtained from the fifty samples did not describe a sufficient variation to this parameter calibration. The range of pH values obtained from the passion fruit pulp, although small, was sufficient to build a model, because the pH values were obtained through mathematical calculation using the acidity content of the sample; as the titration method used for determination of acidity generates larger errors than those found by pHmeter readings, the construction of the model was facilitated. The best calibration model for pH prediction in frozen passion fruit pulp produced a RMSEP = 0.059 and R^2_{val} = 0.61, similar to RMSEP (0.094) found by Li, Huang, Zhao, and Zhang (2013) at their study of pears.

Ascorbic acid content for passion fruit presented high variability and it depends of many factors as maturity stage of the fruit or cultivation systems. Ascorbic acid levels have been reported at 14–41 mg/100 g for fresh passion fruit (Maniwaru et al., 2014; Pertuzatti, Sganzerla, Jacques, Barcia, & Zambiasi, 2015). All the samples of frozen passion fruit pulp analyzed presented AA content lower than 18 mg/100 g (range of 0.30–11.76 mg/100 g), due to these low levels, the models created for AA quantification in passion fruit were not acceptable. However, AA levels for frozen guava pulp presented a satisfactory range to make possible the development of a calibration model. Although AA is a minor component compared to moisture or total sugars, leading to calibration and prediction errors higher than those found for the other four guava models, the results demonstrated good calibration values (RMSEC = 3.195 mg/100 g) and a good prediction accuracy for AA content (RMSEP = 6.137 mg/100 g and R^2_{val} = 0.85). Ignat, Schmilovitch, Fefoldi, Steiner, and Alkalai-Tuvia (2012) studied AA content in bell peppers and collected RMSEC values four times higher than the ones found at this current study (around 16 mg/100 g and R^2_{val} of 0.70). On the other hand, smaller errors (RMSEC = 1.8 mg/100 g, RMSEP = 2.2 and R^2_{val} = 0.8) were obtained in the determination of ascorbic acid in apples by Pissard et al. (2013) who studied a large amount of samples (800 samples).

All models listed on Table 4 can be considered adequate for moisture, total sugar, acidity, soluble solids, pH (except for guava pulp) and ascorbic acid (except for passion fruit pulp) for guava and yellow passion fruit pulps. With the need of alternatives to methods, which generate large quantities of chemical wastes and/or require a long time to obtain the analysis results, the NIR method becomes a suitable alternative. The determination of the six parameters evaluated in this study by reference methods demands several hours and a laboratory analyst well trained for all of them, however, the determination of the same six parameters by NIR requires less than a minute and a knowledge of chemometrics.

In this context, the newly created NIR models for frozen guava and yellow passion fruit pulps can be applied to determine the quality of them for industrial processing, verifying whether a problem has occurred during the process, or, in the evaluation of possible adulteration (intentional or accidental) of the final product, for example, in water addition.

4. Conclusion

Near infrared spectroscopy combined with chemometrics has been proved a rapid and simple procedure to estimate quality parameters (moisture, total sugars, acidity, soluble solids, pH and ascorbic acid) in guava and passion fruit pulps. Low RMSEP and CV values demonstrate the precision of the models and indicate that reference methods can be substituted by NIR spectroscopy. In addition to the simplicity, NIR spectroscopy requires no sample preparation, which facilitates its application during pulps processing or in the surveillance of fraud, such as water addition in the final product.

Acknowledgements

The authors thank FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – process: 2015/15848-0) for the financial support.

References

- A.O.A.C. (1998). *Association of Official analytical chemists: Official methods of analysis* (16th ed.). Fourth Edition: Washington.
- Bag, S. K., Srivastav, P. P., & Mishra, H. N. (2011). FT-NIR spectroscopy: A rapid method for estimation of moisture content in bael pulp. *British Food Journal*, 113(4–5), 494–504.
- Benassi, M. T., & Antunes, A. J. (1988). A comparison of metaphosphoric and oxalic acids as extractants solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 31(4), 507–513 (Curitiba).
- Brazil (2000). Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta. *Instrução Normativa No. 01, de 07 de janeiro de 2000*.
- Colombia (1991). Ministerio de Salud. *Resolucion Numero 7992 de 1991* (Available in: <<http://www.confia.com.co/normatividad/Resolucion%207992%20de%201991%20jugos%20concentrados%20Nectares%20pulpas%20refrescos.pdf>>. Access: November 22, 2015).
- Cunha, M. (2013). *Produtividade e características de frutos de pomares de maracujá implantados com sementes originais e reaproveitadas do híbrido brs Gigante amarelo*. (Dissertação de mestrado) Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Universidade de Brasília.
- Devia, A. A. G., Flórez, J. E. M., Martínez, J. E. B., Espinosa, D. M. I., Arana, A. C., & Caetano, C. M. (2015). Aplicación de la espectroscopia NIR para la predicción de sólidos solubles en pulpa de guayaba. *Agroindustria*, 64(2), 103–109.
- Eigenvector Research Inc. (2010). *PLS Toolbox 5.8*. (Manson, USA).
- EMBRAPA (2003). Available in: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Caju/CultivadoCajueiro/>>. (Access in: January 3, 2015).
- G1. 2015. Proibida venda de polpas de frutas sterbom e nordeste fruit em Natal. Available in: <<http://g1.globo.com/rn/rio-grande-do-norte/noticia/2015/07/proibida-venda-de-polpas-de-frutas-sterbom-e-nordeste-fruit-em-natal.html>>. (Access in: December 3, 2015).
- Galuszka, A., Migaszwski, Z., & Namieśnik, J. (2013). The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 50, 78–84.
- Gutiérrez Devia, Á. A., Muñoz Flórez, J. E., Belalcázar Martínez, J. E., Ibarra Espinosa, D. M., Caicedo Arana, Á., & Caetano, C. M. (2015). Aplicación de la espectroscopia NIR para la predicción de sólidos solubles en pulpa de guayaba. *Acta Agronómica*, 64(2), 103–109.
- IBISWorld (2015). Global fruit & vegetables processing. *IBISWorld industry report* (Available in: <<https://www.ibisworld.com/gosample.aspx?cid=0&rtid=1>>. Access: November 22, 2015).
- IBRAF (2009). *Produção Brasileira de frutas – 2009*. Instituto Brasileiro de Frutas (Available in: <<http://www.ibraf.org.br/estatisticas/Produ%C3%A7%C3%A3o%20Brasileira%20de%20Frutas%202009%20-%20Final.pdf>>. Access in: October 16, 2015).
- Ignat, T., Schmilovitch, Z., Fefoldi, J., Steiner, B., & Alkalai-Tuvia, S. (2012). Non-destructive measurement of ascorbic acid content in bell peppers by VIS–NIR and SWIR spectrometry. *Postharvest Biology and Technology*, 74, 91–99.
- Jukes, D. J. (1997). *Food legislation of the UK: A concise guide* (4th ed.). London: Butterworths-Heinemann.
- Li, J., Huang, W., Zhao, C., & Zhang, B. (2013). A comparative study for the quantitative determination of soluble solids content, pH and firmness of pears by Vis/NIR spectroscopy. *Journal of Food Engineering*, 116(2), 324–332.
- Liu, M., Fu, P., & Cheng, R. (2007). Non-destructive estimation peach ssc and firmness by multispectral reflectance imaging. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 50, 601–608.
- Maniwaru, P., Nakano, K., Boonyakiat, D., Ohashi, S., Hiroi, M., & Tohyama, T. (2014). The use of visible and near infrared spectroscopy for evaluating passion fruit postharvest quality. *Journal of Food Engineering*, 143, 33–43.
- Mariani, N. C. T., da Costa, R. C., de Lima, K. M. G., Nardini, V., Cunha Júnior, L. C., & Teixeira, G. H. d. A. (2014). Predicting soluble solid content in intact Jaboticaba [Myrciaria Jaboticaba (Vell.) O. Berg] fruit using near-infrared spectroscopy and chemometrics. *Food Chemistry*, 159, 458–462.
- Mendoza, F., Lu, R., Ariana, D., Cen, H., & Bailey, B. (2011). Integrated spectral and image analysis of hyperspectral scattering data for prediction of apple fruit firmness and soluble solids content. *Postharvest Biology and Technology*, 62, 149–160.
- Mexico (2009). Norma Oficial Mexicana (NOM-173-SCFI-2009). *Jugos de frutas preenvasados - Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba* (Available in: <http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5107330&fecha=28/08/2009>. Access: November 22, 2015).
- Møller, S. M., Travers, S., Bertram, H. C., & Bertelsen, M. G. (2013). Prediction of postharvest dry matter, soluble solids content, firmness and acidity in apples (cv. Elshof) using NMR and NIR spectroscopy: A comparative study. *European Food Research and Technology*, 237(6), 1021–1024.
- Munyaka, A., Makule, E., Oey, I., Loey, A., & Hendrickx, M. (2010). Thermal stability of L-ascorbic acid and ascorbic acid oxidase in broccoli (*Brassica oleracea* var. italica). *Journal of Food Science*, 75(4).
- Nicaragua (2013). Pulpa de mango congelada: Chile. MIFIC (Ministerio de fomento, Industria y Comercio). Dirección general de fomento a las exportaciones (Available in: <<http://www.mific.gob.ni/Portals/0/Documentos%20CNP/E/Fichas%20producto%20mercado%202014/Mango%20Chile%20ok.pdf>>. Access: November 22, 2015).

- Nicolai, B. M., Beullens, K., Bobelyn, E., Peirs, A., Saeys, W., Theron, K. I., & Lammertyn, J. (2007). Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review. *Postharvest Biology and Technology*, 46, 99–118.
- Núñez-Sánchez, N., Martínez-Marín, A. L., Polvillo, O., Fernández-Cabanás, V. M., Carrizosa, J., Urrutia, B., & Serradilla, J. M. (2016). Near infrared spectroscopy (NIRS) for the determination of the milk fat fatty acid profile of goats. *Food Chemistry*, 190, 244–252. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.083>.
- Oliveira, G. A., Castilhos, F., Renard, C. M. G. C., & Bureau, S. (2014). Comparison of NIR and MIR spectroscopic methods for determination of individual sugars, organic acids and carotenoids in passion fruit. *Food Research International*, 60, 154–162.
- Paz, P., Sanchez, M. T., Perez-Marin, D., Guerrero, J. E., & Garrido-Varo, A. (2008). Nondestructive determination of total soluble solid content and firmness in plums using near-infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 2565–2570.
- Pertuzatti, P. B., Sganzerla, M., Jacques, A. C., Barcia, M. T., & Zambiasi, R. C. (2015). Carotenoids, tocopherols and ascorbic acid content in yellow passion fruit (*Passiflora edulis*) grown under different cultivation systems. *LWT - Food Science and Technology*, 64(1), 259–263.
- Pissard, A., Pierna, J. A. F., Baeten, V., Sinnaeve, G., Lognay, G., Mouteau, A., ... Lateur, M. (2013). Non-destructive measurement of vitamin C, total polyphenol and sugar content in apples using near-infrared spectroscopy. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(2), 238–244.
- Retamales, J. B. (2011). World temperate fruit production: Characteristics and challenges. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33(SPE1), 121–130.
- Torres, I., Perez-Marin, D., De la Haba, M. -J., & Sanchez, M. -T. (2015). Fast and accurate quality assessment of raf tomatoes using NIRS technology. *Postharvest Biology and Technology*, 107, 9–15.
- Wang, H., Peng, J., Xie, C., Bao, Y., & He, Y. (2015). Fruit quality evaluation using spectroscopy technology: A review. *Sensors*, 15(5), 11889–11927.
- Xie, L., Ye, X., Liu, D., & Ying, Y. (2009). Quantification of glucose, fructose and sucrose in bayberry juice by NIR and PLS. *Food Chemistry*, 114(3), 1135–1140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.076>.
- Zietemann, C., & Roberto, S. R. (2007). Produção de mudas de Goiabeira (*Psidium guajava* L.) em diferentes substratos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 29(1), 137–142.

CAPÍTULO IV

Detection of fruit pulp adulteration using multivariate qualitative analysis: Comparison of NIR and MIR performance

Priscila D. Alamar^a, Elem T. S. Caramês^a, Ronei J. Poppi^b, Juliana A. L. Pallone^a

^aDepartment of Food Science, School of Food Engineering, University of Campinas, Monteiro Lobato Street, 80, Zip Code: 13083-862, Campinas, São Paulo, Brazil.

^bInstitute of Chemistry, University of Campinas, 13083-970, Campinas, S.P, Brazil.

ABSTRACT

This study aimed at developing control charts and classification models to investigate sugar and water addition in guava pulp applying near and mid-infrared (NIR and MIR) spectroscopies. The pulp was produced in a pilot plant (authentic samples) during the harvest season in São Paulo (Brazil) and part of samples was adulterated with sugar or water. Authentic and adulterated samples were analyzed by NIR and MIR. The spectra data obtained were pre-processed and principal component analysis was applied. MIR spectra data presents a fingerprint region, which is an important tool to differ authentic and adulterated samples. Control charts and classification models (SIMCA, k-NN, and PLS-DA), which were authenticated by external validation, were used to discriminate authentic from adulterated samples (sugar or water in different concentrations). It was possible to differentiate adulterated from authentic samples through control charts, except for water-adulterated samples using NIR spectral. The models presented excellent values of sensitivity, specificity, accuracy, and efficiency. However, k-NN presented better performance. Therefore, these results suggested that NIR and MIR techniques can be used for adulteration detection, however, MIR control charts and k-NN models are more effective to detect sugar or water adulteration in guava pulp.

Keywords: Guava pulp; NIR; MIR; k-NN; SIMCA; PLS-DA.

1. INTRODUCTION

Guavas (*Psidium guajava* L.) are fruits that present dietary fibers, antioxidant compounds (such as lycopene and vitamin C), and minerals. Moreover, they are used in the elaboration of many products, such as pulps, purées, jellies, jams, nectars, and concentrated juices (ALAMAR et al., 2016; DA ROCHA et al., 2014). Pulp is produced from healthy fruits without water or sugars addition. All sugar present in pulps is the intrinsic sugar found in the fruit, such as fructose and xylose. Brazilian legislation (BRASIL, 2000) recommends maximum values of water (91%) and sugars (15%) for the product denominated guava pulp. Thus, pulps presenting inadequate values for water and sugar when compare to those indicated by the legislation may be considered adulterated and may be subject to investigation.

Water addition in fruit pulps is performed to increase their yield, since they are usually commercialized in Brazil and other countries in fixed weight packets (100g or 1kg). Sugar, usually sucrose, is added for taste correction and total solids adjustment (ALAMAR et al., 2016).

Authentication, adulteration, and evaluation of food products quality has been widely studied around the world through wet-chemical and time-consuming techniques. Vibrational spectroscopic techniques, such as near and mid infrared (NIR and MIR, respectively), could be considered an alternative for this determination (LOHUMI et al., 2015; PALLONE; CARAMÊS; ALAMAR, 2018; QU et al., 2015). Infrared spectroscopy permits rapid, low-cost, and non-destructive analysis, it enables to analyze, simultaneously, several types of components, such as carbohydrates, water, lipids, and proteins (ELLIS et al., 2012).

Qualitative evaluation of infrared spectra is performed by several multivariate analysis, mainly classification methods, such as PCA (principal component analysis) models, SIMCA (soft independent modeling of class analogies) models, PLS-DA (partial least square - discriminant analysis) models, SVM (support vector machine) classification, kNN (k-est near neighbor) models, among others (CHIESA et al., 2016; ELZEY; POLLARD; FAKAYODE, 2016; GÓMEZ-CARAVACA; MAGGIO; CERRETANI, 2016; LIM et al., 2016; LOBATO et al., 2018; QU et al., 2015; RÍOS-REINA et al., 2018).

The use of infrared spectroscopy in combination with chemometrics has been successfully applied to several products, such as: pork adulteration in veal products by NIR (SCHMUTZLER et al., 2015), fraud detection in rosehip oil by MIR (SANTANA et al., 2016), detection of fraudulent adulteration in oregano by MIR (BLACK et al., 2016), and detection of authenticity and adulteration of walnut oil by MIR (LI et al., 2015). However, adulteration assessment in fruit pulps by MIR or NIR and the comparison of their performances is an unprecedented study and it could contribute with an efficient, fast, and “green friendly” technique for quality control evaluation of this type of food consumed by people who want a healthier lifestyle throughout the world.

A previous study applied traditional techniques, NIR spectroscopy and multivariate calibration methods to evaluated identity and quality parameters. It was found that part of Brazilian commercial samples of guava pulp showed inadequate concentration of sugar and water (without the indication on the label), what indicated that this product could be adulterated in order to increase yield and decrease costs of the final product (ALAMAR et al., 2016). Considering that guava pulps can be adulterated by sugar and water addition, the main purpose of this study was to apply infrared spectroscopy and chemometrics to develop models of discriminant analysis (control charts and/or classification models) for detecting guava pulp adulteration by sugar or water addition, comparing NIR and MIR spectroscopies performances.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. AUTHENTIC GUAVA PULP

Ripe guavas were collected during the harvest season in São Paulo, Brazil (in February, March, and April, 2016) and pulped in a pilot plant, according to Figure 1. It were obtained three different authentic pulps, according each harvest month collected. The resulting of each pulp was fractionated into two parts. The first part was partitioned and labeled as authentic samples and the second one was adulterated with 4 different sugar concentrations (5, 10, 20, and 30%, w/w) or 6 different water concentrations (5, 10, 15, 20, 25, and 30%, w/v), both in quintuplicates. The total number of samples produced was 90 authentic, 60 sugar-adulterated, and 90 water-adulterated, totaling 240 samples.

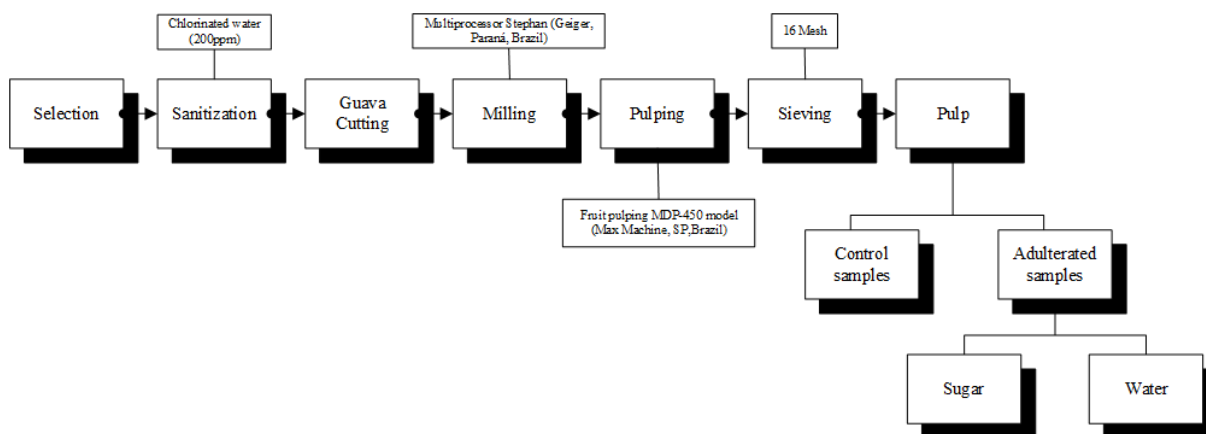


Figure 1. Guava pulp processing.

2.2. SPECTRA ACQUISITION

2.2.1. NIR Spectra

About 2 grams of each sample was placed into a petri dish, the liquid reflector was placed on top of the sample and carefully pushed against the glass before scanning (Perkin Elmer-Waltham, USA, Part Number L118-0503). Transflectance measurements were performed applying near infrared reflectance accessory (Perkin Elmer-Waltham, USA, model NIRA) in a FT-NIR spectrometer (Perkin Elmer-Waltham, USA, model Spectrum 100N) in the range of 10000-4000 cm^{-1} . It was used 32 scans and spectral resolution of 4 cm^{-1} . All samples were scanned in triplicate and the average spectrum was used in subsequent calculations.

2.2.2. MIR Spectra

The mid infrared (MIR) spectra were recorded using a FT-MIR spectrometer (Agilent Cary 630, California, USA) equipped with attenuated total reflectance (ATR) accessory with a SeZn crystal and detector deuterated triglycine sulfate (DTGS). Samples were scanned

at wavenumbers ranging from 4,000 to 400 cm⁻¹, with a resolution of 4 cm⁻¹, 64 scans. ATR was cleaned with ethanol using a piece of cotton.

2.3. CHEMOMETRICS

The spectra collected were preprocessed in order to improve the modelling performance removing background variations. In this study, several spectral preprocessing algorithms were tested, such as MSC (Multiplicative Scatter Correction), SNV (Standard Normal Variate), Savitzky-Golay smoothing, and first and second derivative (21 points). Cross validation was performed to determine the number of principal components (PC) and/or latent variables (LV) in PLS-DA modeling. The classification models quality was evaluated by true positive (TP), true negative (TN), false positive (FP), false negative (FN), sensitivity (Eq. 1), specificity (Eq. 2), accuracy (Eq. 3), and efficiency (Eq. 4) (SANTANA et al., 2016).

$$Sensitivity (\%) = \frac{TP}{TP+FN} * 100 \quad (1)$$

$$Specificity (\%) = \frac{TN}{TN+FP} * 100 \quad (2)$$

$$Accuracy (\%) = \frac{TN+TP}{TN+TP+FN+FP} * 100 \quad (3)$$

$$Efficiency = \frac{Sensitivity+Specificity}{2} \quad (4)$$

Authentic and adulterated samples were divided into two sets (calibration and external validation). Two thirds (of all harvest seasons; N = 160) were considered calibration set and one third (of all harvest seasons; N = 80) external validation set.

2.4. DISCRIMINANT ANALYSIS

An unsupervised multivariate method, Principal Component Analysis (PCA), and three supervised multivariate methods, Soft Independent Modeling of Class Analogy (SIMCA), k-Nearest Neighbor (k-NN), and Partial Least Square – Discrimination Analysis (PLS-DA), were used in this investigation for guava pulp adulteration.

PCA multivariate data in few dimensions, increasing relevant information, providing better visualization and interpretation of the data. PCA was carried out to verify data distribution, structure, and a possible separation into groups of authentic and adulterated samples as well as for the control charts building.

The Q chart corresponds to a lack of fit statistic for PCA models and it can be obtained by the sum of the residual matrix squares. Q is a scalar that measures the amount of

variation not accounted for the PCA model. In case of a controlled process, the Q values must be small (BORIN; POPPI, 2004).

SIMCA is a supervised classification model, where a PCA model is created for each class in the data set. Envelopes are built around the PCA models that contain the samples belonging to each class (FERREIRA, 2015).

The deterministic method of k-NN is used to calculate the distance between a sample and its neighbors (one sample per time), and these distances are arranged in ascending order to determine the k nearest neighbors. The number of k nearest neighbors was chosen through sensitivity and specificity evaluation (LOBATO et al., 2018).

PLS-DA is a discriminant method that applies PLS regression to create models to predict a sample class. The samples are discriminated into two distinct classes: class 1 presents samples of interest and class 0 presents the other samples. The probability threshold value used in strict class assignment was 0.5. The number of latent variables was chosen through the values of sensitivity and specificity. Cross validation was achieved by leave-one-out (FERREIRA, 2015).

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 NIR AND MIR SPECTROSCOPIC ANALYSIS

The MIR and NIR spectra of authentic guava pulp (without adulteration) and adulterated guava pulp – with water (A and C) or sugar (B and D) – are shown in Figure 2, respectively. NIR spectra for authentic and adulterated samples were quite similar, making it impossible to differentiate adulterated samples without the use of chemometric tools. On the other hand, the fingerprint region (1500 to 500 cm^{-1}) present in MIR spectra, highlighted in Figure 2 (A and B) for adulterated samples with water and sugar, respectively, facilitates the visualization of different spectra behaviors for various adulterant concentrations. However, the use of chemometrics remains required for the accurate spectra analysis. However, the fingerprint region (MIR spectra) was chosen to create obtain control charts and classification models.

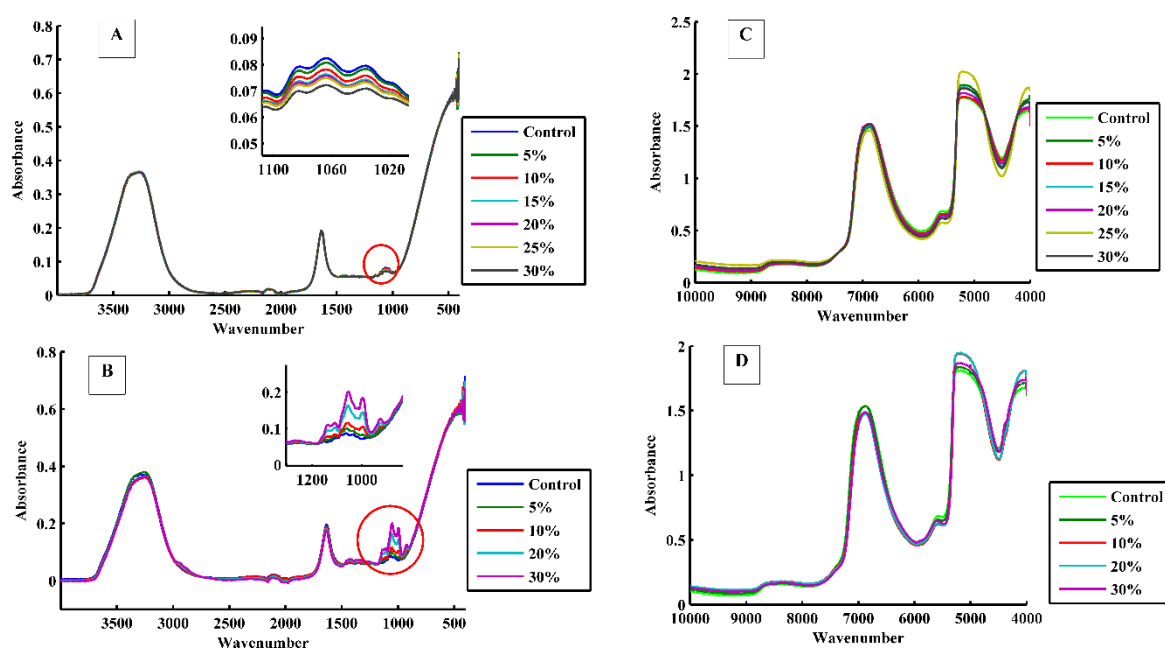


Figure 2. Guava samples MIR spectra: (A) Water adulterated; (B) sugar adulterated; and NIR spectra: (C) Water adulterated; (D) sugar adulterated.

An assessment conducted in Q_{residual} values of raw spectra showed that the final portion of the spectra, for both techniques (NIR and MIR), produced excessive residue; the removal of this part of the spectrum enabled a more reliable modeling.

3.2 PCA AND CONTROL CHARTS

Figure 3 illustrates the differentiations among authentic, water, and sugar adulterated samples for NIR (Figure 3A) and MIR (Figure 3B) spectroscopy. PCA elaborated applying NIR spectra (first derivative 21 points, MSC and mean center) used three principal components that described 93% of data variance, and PCA elaborated applying MIR spectra (smoothing 21 points and mean center) used only two principal components that described past 99% of data variance. The analysis of PCA scores plots (PC1 vs. PC3, for NIR PCA, and PC1 vs. PC2, for MIR PCA) presents a division of the samples into two groups, authentic and water-adulterated samples were separated from sugar-adulterated samples.

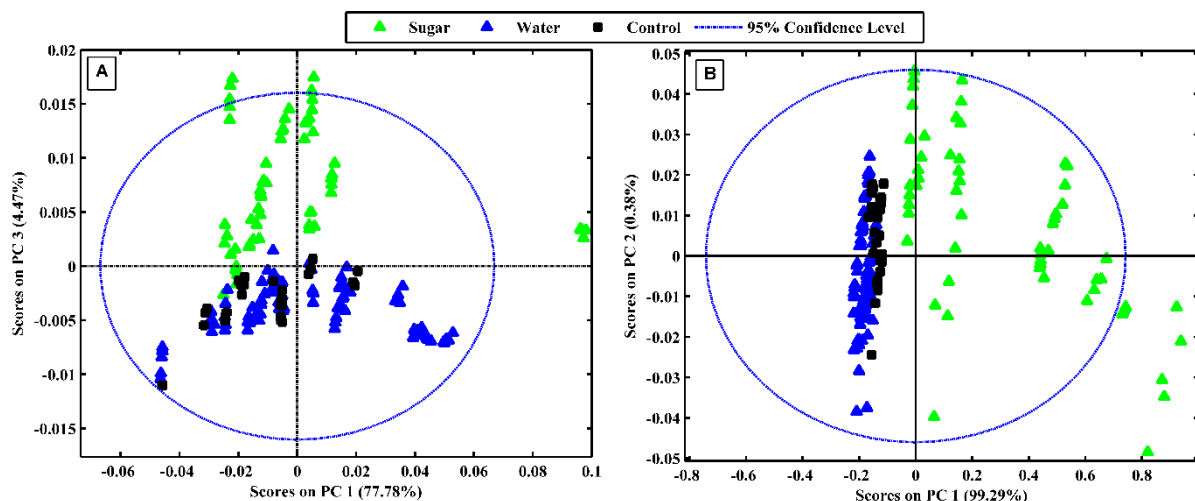


Figure 3. PCA guava pulps: (A) NIR; (B) MIR.

A multivariate Q_{residual} control chart was developed based on the spectra of two-thirds ($N = 60$) of authentic guava pulp samples (considered as authentic group), for NIR and MIR spectroscopy. MIR spectra data were preprocessed with Savitzky-Golay smoothing (21 points) and mean centered to improve the signal/noise ratio. Other different combinations were tested and smoothing/mean center showed the best performance for this control chart. Three principal components, which were selected for MIR Q_{residual} chart, explained 99% of data variance. All ($N = 90$) water-adulterated (Figure 4A) and ($N = 60$) sugar-adulterated samples (Figure 4B) and one-third ($N = 30$) of authentic samples were used as validation group (180 samples).

NIR spectra data were preprocessed with Savitzky-Golay algorithm (1st derivative, 21 points), MSC, and mean centered, in order to correct offset and light scattering showed by raw data. Other preprocessing (Savitzky-Golay algorithm - 2nd derivative -, Savitzky-Golay smoothing, SNV, among others) were tested. However, the combination chosen showed the best performance for the control chart building. Seven principal components, which explained 98% of the data variance, were chosen for NIR Q_{residual} chart (Figure 4); all ($N = 90$) water-adulterated (Figure 4C) and ($N = 60$) sugar-adulterated samples (Figure 4D) and one-third ($N = 30$) of authentic samples were used as validation group (180 samples).

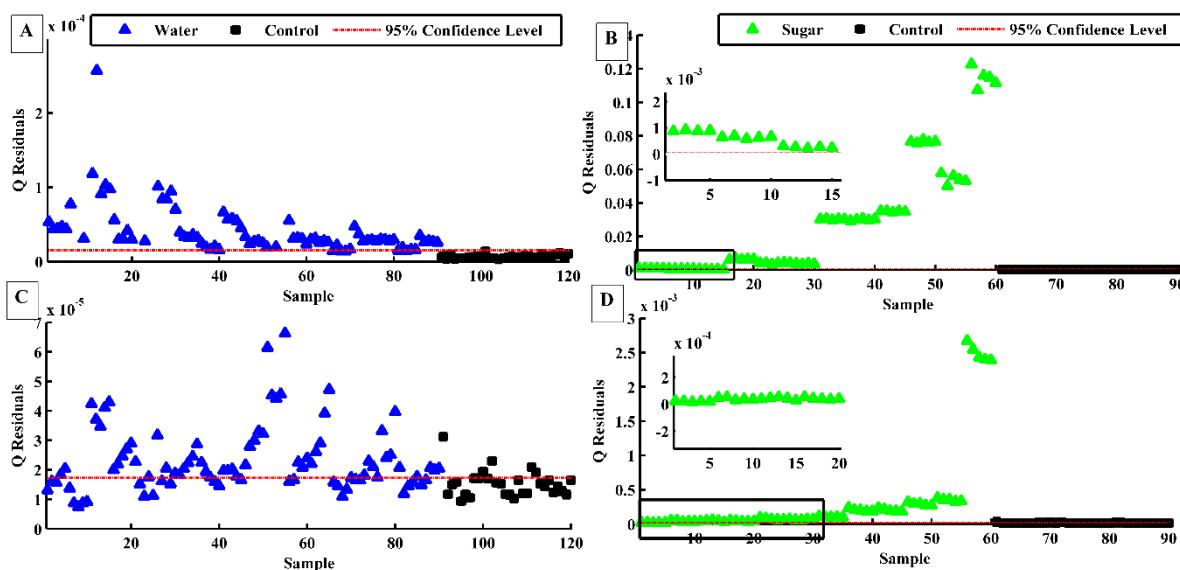


Figure 4. MIR and NIR control charts (Qresidual vs. Sample) for guava pulp adulteration. (A and C) Water-adulterated, (B and D) sugar-adulterated, respectively.

Water-adulterated samples (Figure 4C) presented Q_{residual} values below the Q_{limit} , whereas authentic samples in the validation group presented Q_{residual} values above the Q_{limit} ; this behavior demonstrates that the NIR Q chart is not suitable for water-adulterated and authentic samples differentiation. On the other hand, sugar-adulterated samples exhibited Q_{residual} values above Q_{limit} , while authentic samples in the validation group presented Q_{residual} values below the Q_{limit} . These results demonstrate that the NIR Q chart could be used to differentiate authentic samples from sugar-adulterated samples at all concentrations evaluated in this study.

MIR control charts (Figure 4) proved to be adequate to detect guava pulp adulteration since the Q_{residual} values were higher than the Q_{limit} for both adulterated samples (with water and with sugar) (Figures 4A and 4B, respectively), for all concentrations. This behavior may be related to the fact that MIR control charts were created at the fingerprint region (range of 1500 to 500 cm^{-1}) of the spectra and NIR control charts were created using the entire spectra, since NIR spectra did not have a visible fingerprint region.

The fingerprint region of MIR spectra is usually associated with C-O and C-C stretching and C-O-C and C-O-H, which could be related with esters, carbohydrates, and organic acids. This region was selected for the control chart building of water-adulterated samples, since it would be possible to visualize the dilution of these compounds (CARAMÊS et al., 2016; MUSINGARABWI et al., 2016).

NIR spectra of liquid samples present two characteristic bands of absorption - 6900 cm^{-1} (first overtone by O – H) and 5200 cm^{-1} (O – H combination) - related to water. Therefore, samples such as juices and fruit pulps present high water content (moisture around 90%) and

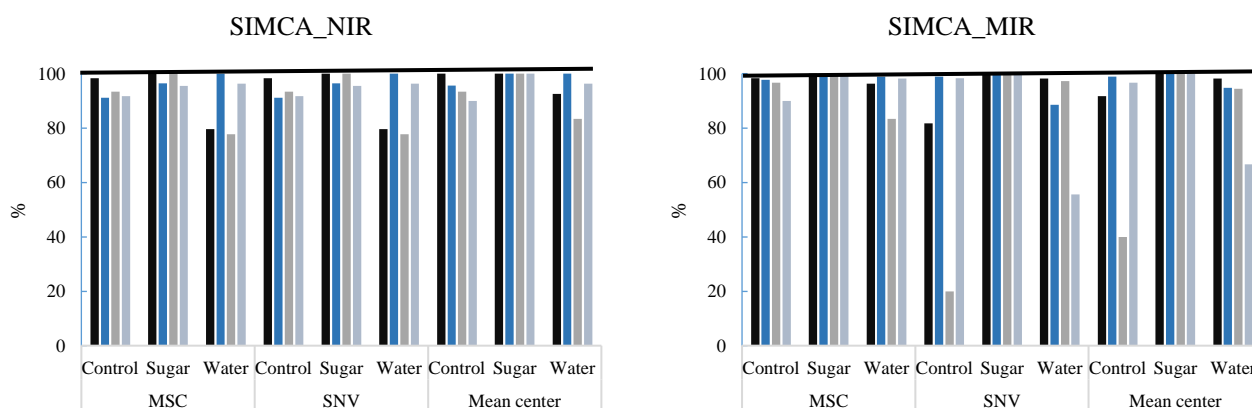
they show great similarity in their NIR spectra (CARAMÊS et al., 2017; SHIROMA; RODRIGUEZ-SAONA, 2009), and they do not have a fingerprint region. Several methods were applied in an attempt to select variables that would facilitate control chart building for water-adulterated samples, but no selected interval presented a better control chart than this created with the entire spectrum.

Control charts application has been increasing in recent years, there are few studies using these charts in process control and adulteration analysis. A study applied NIR control charts to evaluate freeze-dried açai pulp authenticity. Adulterated samples presented Q_{residual} values above Q_{limit} as verified at this study to MIR control charts, showing that control charts can be used in a rapid and simple detection of fruit pulp adulteration whether fresh or dried (LOBATO et al., 2018).

Raman spectroscopy was used to control glucose fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*; Q control charts based on MPCA (multiway principal component analysis) was considered efficient in controlling glucose fermentation caused by temperature variation and contamination or modification in the substrate (ÁVILA et al., 2012).

3.3 CLASSIFICATION MODELS

Classification models (SIMCA, k-NN, and PLS-DA), as well as PCA and control charts, were created to investigate class separation (authentic and adulterated). Figure 5 indicates sensitivity and specificity values for calibration and validation sets to authentic and adulterated (sugar and water) classes, for both NIR and MIR spectra. The classification models, which presented the highest sensitivity and specificity values (for both classification methods), were selected as the best performance models for detecting adulteration in guava pulp.



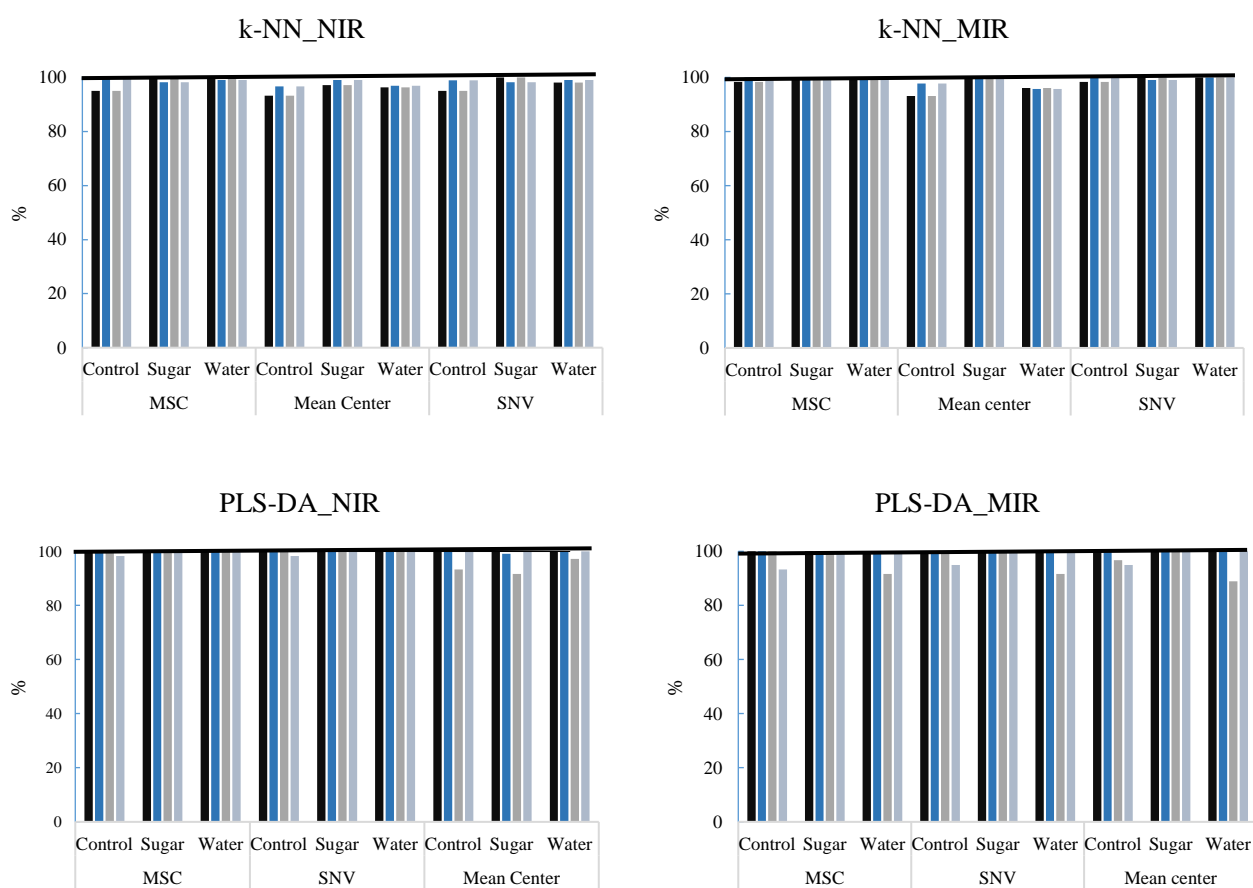


Figure 5. Preprocessing comparison among classification methods. ■ Cal. Sensibility; ■ Cal. Specificity; ■ Pred. Sensibility; ■ Pred. Specificity.

Based on sensibility and specificity values of classification models for each preprocessing method, six models were chosen: SIMCA (mean centered), k-NN (MSC), and PLS-DA (SNV), for NIR spectra; and SIMCA (MSC), k-NN (MSC), and PLS-DA (SNV), for MIR spectra. Table 1 illustrates accuracy and efficiency of the classification models selected.

Table 1. Accuracy and efficiency of classification models based on NIR and MIR spectra for control and adulterated guava pulp samples.

	Class	SIMCA		k-NN		PLS-DA	
		Accuracy	Efficiency	Accuracy	Efficiency	Accuracy	Efficiency
NIR	Control	91.7	91.5	100	97.5	98.9	96.7
	Sugar	100	100	100	99.1	98.9	95.9
	Water	91.3	89.5	100	99.5	100	98.6
MIR	Control	92.7	93.5	98.9	99.1	96.7	95.9
	Sugar	100	100	100	99.6	100	100
	Water	92.3	90.5	98.9	100	96.7	94.5

Despite the high accuracy and efficiency values obtained for SIMCA and PLS-DA models (NIR and MIR), their performance were lower than that obtained by k-NN (accuracy and efficiency above 99%), indicating that the k-NN provided better adequacy to the data prediction.

NIR and MIR spectra was applied to create PCA and PLS-DA models to avoid adulteration and verify origin wine vinegars. Classification models (accuracy and efficiency above 100%, for NIR and MIR) were considered useful for a rapid characterization and classification, enabling the determination of authenticity of the high quality product (RÍOS-REINA et al., 2018).

Classification models (SIMCA, k-NN and PLS-DA) were applied to define freeze-dried açai pulp authentication by using NIR spectra (LOBATO et al., 2018). All classification models were considered efficient and accurate at determination of freeze-dried açai pulp adulteration, but k-NN presented better performance when compared with SIMCA and PLS-DA, with the last two requiring a high number of principal components or latent variables for the correct class separation.

On the other hand, MIR spectroscopy was used to verify fraudulent adulteration of rosehip oil (SANTANA et al., 2016). PLS-DA classification model was chosen and it was considered efficient to discriminate authentic rosehip oil and adulterated samples elaborated with three different oils, presenting specificity and sensibility of 100%, as well as its accuracy and efficiency.

In this context, the detection of guava pulp adulteration by sugar or water addition could be accomplished by infrared spectroscopy application, demonstrating that both NIR and MIR could be rapid, non-destructive and environmentally friendly alternative techniques for that type of adulteration.

4. CONCLUSION

Control charts and classification models (k-NN, SIMCA, and PLS-DA) for adulteration detection (sugar and water addition) in guava pulp were developed by applying the infrared spectroscopy (NIR and MIR) and chemometric tools. NIR control chart was efficient to verify sugar but not water addition in guava pulp, whereas the control chart based on MIR was efficient for both types of adulteration, due to the presence of the fingerprint in the spectrum. From the classification models, k-NN (NIR e MIR) was considered the most suitable for adulteration detection in guava pulp, since it presented the best accuracy and efficiency. The results indicate that infrared spectroscopy (NIR and MIR), combined with chemometrics, is a suitable technique to determine guava pulp adulteration; however, k-NN model created with MIR spectra were more efficient and accurate for sample classification, with the advantage

of being non-destructive, fast, and “green friendly”, besides being applicable to the food industry for the control of processing.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank FAPESP (Foundation for Research Support of the State of São Paulo – process: [grant number: 2015/15848-0]) and CAPES (Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel – finance code 001) for the financial support.

REFERENCES

- ALAMAR, P. D. et al. Quality evaluation of frozen guava and yellow passion fruit pulps by NIR spectroscopy and chemometrics. **Food Research International**, v. 85, p. 209–214, 2016.
- ÁVILA, T. C. et al. Raman spectroscopy and chemometrics for on-line control of glucose fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnology Progress**, v. 28, n. 6, p. 1598–1604, nov. 2012.
- BLACK, C. et al. A comprehensive strategy to detect the fraudulent adulteration of herbs: The oregano approach. **Food Chemistry**, v. 210, p. 551–557, nov. 2016.
- BORIN, A.; POPPI, R. J. Multivariate quality control of lubricating oils using Fourier transform infrared spectroscopy. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 4, p. 570–576, ago. 2004.
- BRASIL. **Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta**. Instrução Normativa No 01, de 07 de janeiro de 2000, 2000.
- CARAMÊS, E. T. S. et al. Rapid Assessment of Total Phenolic and Anthocyanin Contents in Grape Juice Using Infrared Spectroscopy and Multivariate Calibration. **Food Analytical Methods**, p. 1–7, nov. 2016.
- CARAMÊS, E. T. S. et al. Quality control of cashew apple and guava nectar by near infrared spectroscopy. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 56, p. 41–46, 2017.
- CHIESA, L. et al. Authentication of Italian PDO lard using NIR spectroscopy, volatile profile and fatty acid composition combined with chemometrics. **Food Chemistry**, v. 212, p. 296–304, dez. 2016.
- DINIZ, R. S. et al. Physical Properties of Red Guava (*Psidium guajava* L.) Pulp as Affected by Soluble Solids Content and Temperature. **International Journal of Food Engineering**, v. 10, p. 437–445, set. 2014.
- ELZEY, B.; POLLARD, D.; FAKAYODE, S. O. Determination of adulterated neem and flaxseed oil compositions by FTIR spectroscopy and multivariate regression analysis. **Food Control**, v. 68, p. 303–309, 2016.
- GÓMEZ-CARAVACA, A. M.; MAGGIO, R. M.; CERRETANI, L. Chemometric applications to assess quality and critical parameters of virgin and extra-virgin olive oil. A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 913, p. 1–21, mar. 2016.

- LI, B. et al. Rapid detection of authenticity and adulteration of walnut oil by FTIR and fluorescence spectroscopy: A comparative study. **Food Chemistry**, v. 181, p. 25–30, 2015.
- LIM, J. et al. Detection of melamine in milk powders using near-infrared hyperspectral imaging combined with regression coefficient of partial least square regression model. **Talanta**, v. 151, p. 183–191, 2016.
- LOBATO, K. B. DE S. et al. Authenticity of freeze-dried açai pulp by near-infrared spectroscopy. **Journal of Food Engineering**, v. 224, p. 105–111, 2018.
- LOHUMI, S. et al. A review of vibrational spectroscopic techniques for the detection of food authenticity and adulteration. **Trends in Food Science & Technology**, v. 46, n. 1, p. 85–98, nov. 2015.
- MUSINGARABWI, D. M. et al. A rapid qualitative and quantitative evaluation of grape berries at various stages of development using Fourier-transform infrared spectroscopy and multivariate data analysis. **Food Chemistry**, v. 190, p. 253–262, 1 jan. 2016.
- PALLONE, J. A. L.; CARAMÊS, E. T. DOS S.; ALAMAR, P. D. Green analytical chemistry applied in food analysis: alternative techniques. **Current Opinion in Food Science**, v. 22, p. 115–121, 2018.
- QU, J.-H. et al. Applications of Near-infrared Spectroscopy in Food Safety Evaluation and Control: A Review of Recent Research Advances. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, n. 13, p. 1939–1954, nov. 2015.
- RÍOS-REINA, R. et al. NIR spectroscopy and chemometrics for the typification of Spanish wine vinegars with a protected designation of origin. **Food Control**, v. 89, p. 108–116, 1 jul. 2018.
- SANTANA, F. B. DE et al. Non-destructive fraud detection in rosehip oil by MIR spectroscopy and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 209, p. 228–233, 2016.
- SCHMUTZLER, M. et al. Methods for detection of pork adulteration in veal product based on FT-NIR spectroscopy for laboratory, industrial and on-site analysis. **Food Control**, v. 57, p. 258–267, nov. 2015.
- SHIROMA, C.; RODRIGUEZ-SAONA, L. Application of NIR and MIR spectroscopy in quality control of potato chips. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 22, n. 6, p. 596–605, set. 2009.

CAPÍTULO V

Monitoring of Effects of the Pasteurization Process and Stability During Frozen Fruit Pulp Storage in Vitamin C Content by Near Infrared Spectroscopy

Priscila D. Alamar, Elem T. S. Caramês, Juliana A. L. Pallone

^aDepartment of Food Science, School of Food Engineering, University of Campinas, Monteiro Lobato Street, 80, Zip Code: 13083-862, Campinas, São Paulo, Brazil.

Artigo submetido ao Journal of Food Chemistry.

ABSTRACT

Ascorbic acid (AA) is a vitamin of nutritional importance due to its bioactive properties and it is highly unstable. Fruit pulps are used for domestic and industrial consumption. Thus, the present work aimed at verifying the effect of thermal processing (pasteurization) and stability during one-year storage under freezing of vitamin C in guava pulp, applying near infrared (NIR) spectroscopy and multivariate analysis (PLSR), as a novelty and an alternative green method. Pulps were produced during guava harvest in São Paulo (Brazil), with or without pasteurization. Pulp production results in a AA loss from 2-20%, and it has been found that AA loss in pasteurized pulp was up to 10 times higher when it was not heat treated. NIR-PLSR models were validated and demonstrate an adequate method for vitamin C content control. All models built showed that pulp storage caused losses of 20-40% in AA; which samples with lower acidity suffered a greater impact of pasteurization and samples with a higher degree of maturation suffered higher losses due to low initial AA content. Results demonstrated that NIR spectroscopy can be applied in bioactives loss verification after processing and during storage of fruit pulps.

Keywords: Vitamin inactivation; thermal processing; chemometrics; green chemistry.

1. INTRODUCTION

Guava (*Psidium guajava* L.) is a tropical fruit which is consumed *in natura*, but it can be applied in the production of various by-products, such as various beverages, jams, jellies and frozen pulp. It has a great nutritional importance due to its high level of bioactive compounds, such as ascorbic acid (vitamin C) and others. Bioactive compounds of the fruit are not present only in fresh fruit, but are also present in their by-products, which makes all guava products a source of these compounds (ORDÓÑEZ-SANTOS et al., 2013; POLINATI; OLIVEIRA; FIALHO, 2012; WANG et al., 2014).

The content of ascorbic acid in guava fruits ranges from about 50 to 400 mg ascorbic acid/ 100g of pulp; guava being considered a good source of ascorbic acid (AA). This content is highly related to several factors such as fruit variety and species, origin, climatic and cultivation conditions, harvest season and stage of maturity (HWANG; LI; LINA, 2017; LIMA; ASSIS; GONZAGA NETO, 2002). Unripe fruit has higher ascorbic acid content as compared to the ripe fruit; this behavior occurs due to a decrease during the ripening stages. This decrease has been related to the oxidative degradation of ascorbic acid in several climacteric fruits, such as guavas (SIRIAMORNpun; KAEWSEEJAN, 2017).

The verification of possible losses of ascorbic acid post-processing or during storage is currently carried out by the AOAC official method (967.21), by the spectrophotometric method [using N-bromosuccinimide (NBS)], by HPLC (High Performance Liquid Chromatography), among other methods. All these methods are time spending, they require different toxic reagents, in addition to jeopardize the operator safety (ALAMAR et al., 2016; CARAMÊS et al., 2017; CUNHA et al., 2014; PISSARD et al., 2013).

Vibrational spectroscopies, such as NIR (near infrared) and Raman, have been applied, in combination with chemometrics (PCA – Principal Component Analysis - and PLSR – Partial Least Squares Regression - models), in the determination of degradation and losses in bioactive compounds (carotenoids, phenolic compounds and their classes) post processing and storage (BOLEA et al., 2016; SAAD et al., 2016; SEBBEN et al., 2018). However, the potential of non-destructive techniques, as NIR, was not reported for evaluate ascorbic acid stability or degradation after processing and during storage of fruit pulps.

The determination of the identity and quality parameters, including ascorbic acid (AA), in commercially available guava pulp using and NIR spectroscopy and PLSR models has already been successfully applied (ALAMAR et al., 2016), therefore, this study aimed to verify the ascorbic acid stability during freezing storage of guava pulp, after thermal processing, through NIR spectroscopy and chemometric tools (PLSR).

2. MATERIAL AND METHODS

2.1 GUAVA PULP PRODUCTION

Ripe guavas were purchased during the harvest season in São Paulo/Brazil (February, March, and April, 2016) and pulped in a pilot plant, according to Figure 1, for each month of the harvest season and for processing with or without heat treatment, accounting six different guava pulps.

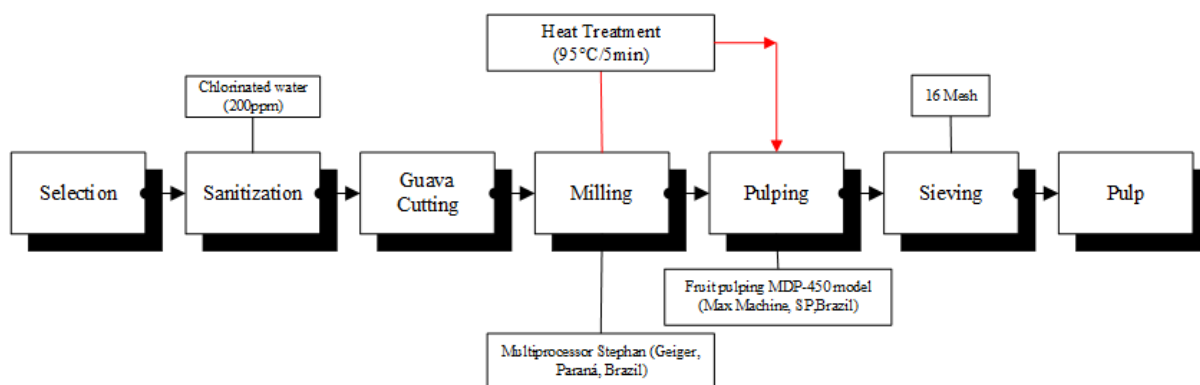


Figure 1. Guava pulp processing.

Three pasteurized and three non-pasteurized guava pulps were obtained and divided into 12 plastic bags, corresponding to one bag for each month of pulp produced, in triplicate (N = 246), heat sealed and frozen at -22°C.

2.2 ASCORBIC ACID (AA) EVALUATION BY REFERENCE METHOD

AA content was determined by titration method using 2,6-dichloro-indophenol of the Official Methods of Analysis (AOAC, 1999), reference method 967.21, with modifications (BENASSI; ANTUNES, 1988). AA content of the fruits applied in pulp production was

evaluated, as well as the AA content for samples produced according each harvest month (February, March, and April, 2016), pasteurized and non-pasteurized samples.

2.3 NIR SPECTRA ACQUISITION

Around 2 grams of each sample was placed into a petri dish, the liquid reflector was placed over the sample and carefully pushed against the glass before scanning (Perkin Elmer-Waltham, USA, Part Number L118-0503). Transflectance measurements were performed using near infrared reflectance accessory (Perkin Elmer-Waltham, USA, model NIRA) in a FT-NIR spectrometer (Perkin Elmer-Waltham, USA, model Spectrum 100N) in the range of 10,000-4,000 cm^{-1} . 32 scans and spectral resolution of 4 cm^{-1} were used. The samples were scanned in triplicate and the average spectrum was applied in subsequent calculations. The NIR spectra were collected for the same samples evaluated by the reference method.

2.4 CHEMOMETRICS

In order to improve the modeling performance by background variations removal, the obtained spectra were preprocessed. Spectra were mean centered and several spectral preprocessing algorithms were tested in this study, such as MSC (Multiplicative Scatter Correction), SNV (Standard Normal Variate), Savitzky-Golay smoothing, and first and second derivative Savitzky-Golay (31 points). Cross validation was performed to determine the number of principal components (PC) and/or latent variables (LV) in PLSR.

Calibration and external validation (prediction) sets were selected randomly by division of the original samples into two subsets: 70% for calibration set and 30% for prediction. The PLSR models performance was evaluated using the coefficient of determination (R^2), the root-mean-square error of calibration (RMSEC), and the root-mean-square error of prediction (RMSEP).

The samples considered as outliers were removed, based on the analysis of their Student Residual, Q residual and T^2 Hotelling values, in order to improve PLSR model's quality. PLSR models were calculated using the PLS-toolbox 8.6 and Matlab version 2017b.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 PROCESSING EFFECTS ON AA CONTENT

The fruits obtained in each harvest month and applied in the pulp production presented different degrees of maturity, which influenced in some characteristics shown in the final pulp, as texture and AA content. The original content of AA presented by the fruits applied in the production of the pulp for February was 76 mg/100g, while for March was 54 mg/100g and for the month of April was 85 mg/100g. Figure 2 shows the loss of AA during processing of the pasteurized and non-pasteurized pulp.

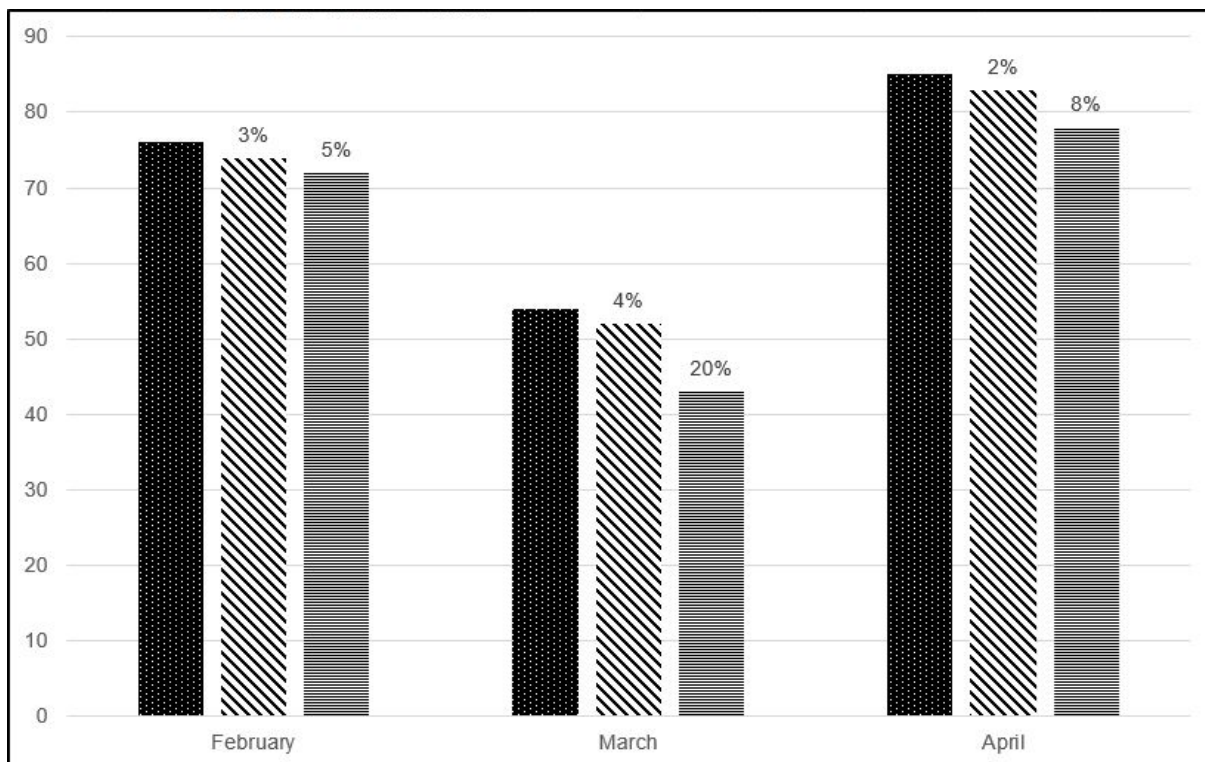


Figure 2. AA loss by processing. ■ guava fruits; ▨ guava pulp non-pasteurized; ▤ guava pulp pasteurized.

Heat treatment increases the shelf life of products through the partial or total destruction of microorganisms and enzyme inactivation; however, some compounds such as ascorbic acid can suffer a decrease in their content (ROCHA et al., 2012). The inactivation of ascorbic acid in aerobic medium (i.e. in the presence of oxygen) increases at high temperatures, for this reason, it is possible to verify in Figure 2 that pasteurized samples presented losses in the AA content more significant than the non-pasteurized samples.

Furthermore, the pulp produced in March showed a greater loss in this bioactive compound; this behavior may be related to the quality of the fruits used in the production of this pulp, since they presented a higher degree of maturity than the fruits used in the pulp production of February and April.

The whole process of fruit maturation is related to the action of intrinsic enzymes of the fruit itself, allowing changes in its texture, color, soluble solids and organic acids content, among other processes. The higher the degree of maturation of the fruits, the greater the content of the enzyme ascorbic acid oxidase and, consequently, the lower the content of ascorbic acid. The disintegration of the fruits allows the release of the enzyme bound to the cell wall of the fruits, increasing the degradation of AA (CARDELLO; CARDELLO, 1998; MEGALE, 2002).

After pulp production and storage, AA content was quantified month by month and the data obtained were correlated to the NIR spectra collected for all samples for posterior elaboration of calibration models.

3.2 PLSR CALIBRATION FOR AA CONTENT

In order to evaluate the possibility of the use of NIR and PLSR to predict the stability of the AA concentration in guava pulp during freezing storage NIR spectra of the samples were collected. Pasteurized and non-pasteurized guava pulp shown no visual difference at their NIR spectra. Raw-data (Figure 3A and 3B) present two hydroxyl bands of absorption related to water [6900 cm^{-1} (first overtone by O – H) and 5200 cm^{-1} (O – H combination)].

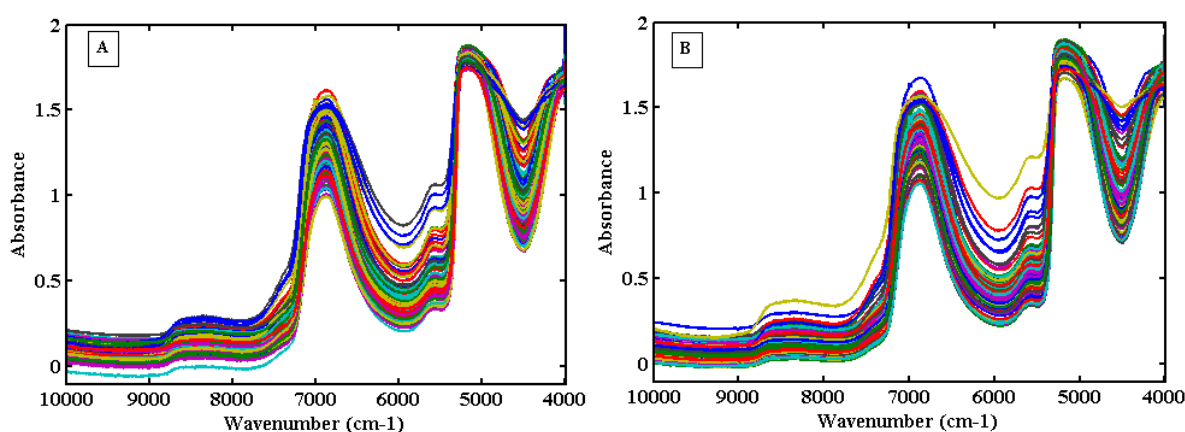


Figure 3. NIR spectra of (A) Pasteurized and (B) Non-pasteurized guava pulp.

The baseline offset and light scattering demonstrated by guava pulp spectra were corrected by MSC and 1st derivative algorithm, and the final portion of the spectra (4400 to 4000 cm^{-1}) was removed since it did not present a good signal/noise ratio. In addition, the second water band present in the sample spectra made it difficult to calibrate AA because of its high absorbance. Thus, part of the spectra related to the water band was removed in the subsequent calculations. The water band interference was also detected by Caramês et al. (2017), Xie et al. (2009) and Alamar et al. (2016), and this portion of NIR spectra was performed to improve PLSR models obtaining.

Statistical data for the multivariate models obtained are available in the Table 1, where it can be verified that the model for the pasteurized guava pulp presented a total number of samples (N) smaller than that applied to the non-pasteurized pulp.

Table 1. PLSR results for pasteurized and non-pasteurized guava pulps.

	N		LV	R^2_c	RMSEC	R^2_p	RMSEP
	N_c	N_p					
Pasteurized	51	21	7	0.78	3.78	0.77	4.84

Non-pasteurized	72	34	8	0.79	6.28	0.81	5.58
-----------------	----	----	---	------	------	------	------

N: Total of samples; N_c: calibration samples; N_p: prediction samples.

R²_c: coefficient of determination of calibration; R²_p: coefficient of determination of prediction.

Samples of pasteurized pulp produced at March were removed of model calibration because the pulps presented an anomalous behavior and a high Student Residual (Supplementary Figure 1) when compared to the other samples that also underwent a thermal treatment. March samples, after the previous thawing for analysis, exuded and released part of the water present in the samples.

Linear regression plots obtained for pasteurized and non-pasteurized guava pulp are shown in Figure 4A and 4B, respectively. Both models present a good determination coefficient (above 75%) and a small number of LV, avoiding over-adjustment of the models. Alamar et al. (2016) presented NIR calibration model to quantify AA in commercial guava pulps and they found RMSEC of 3.2 mg AA/100g pulp, value similar to the one found in pasteurized pulps in that current study (RMSEC = 3.8 mg AA/100g pulp), and RMSEP of 6.1 mg AA/100g pulp, similar to the one found to non-pasteurized pulps in that current study (5.6 mg AA/100g pulp). Caramês et al. (2017) quantified AA in guava nectar and the calibration model was created with 6 LV and RMSEC and RMSEP errors (6.4 and 7.4, respectively) similar to those found to non-pasteurized pulps. Ignat et al., (2012) quantified AA in three pepper varieties and they obtained RMSEC from 8 to 12 mg AA/100g and R² around 0.7, applying 4, 6 or 3 LV.

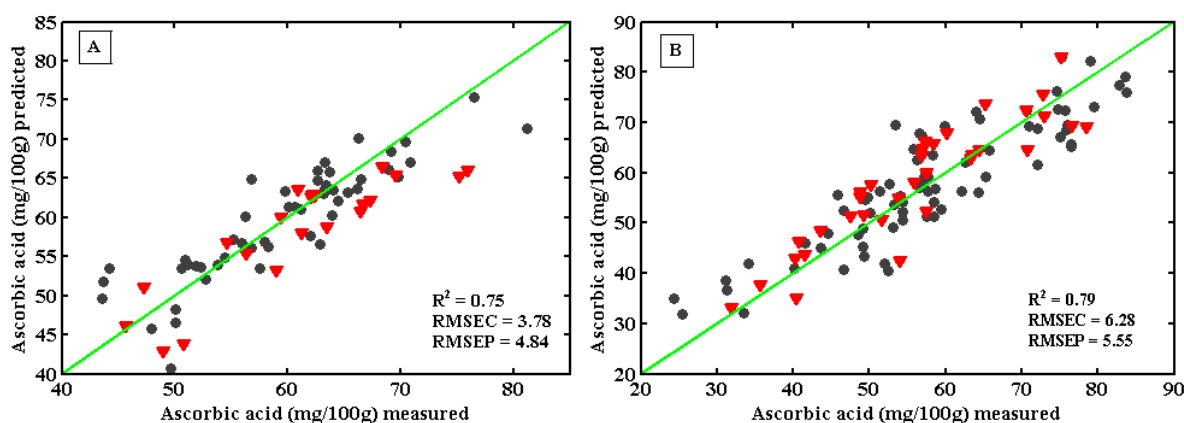


Figure 4. Predicted versus measured values of ascorbic acid (mg/100g) in (A) Pasteurized and (B) Non-pasteurized guava pulp; (●: calibration set; ▼: prediction set).

Both PLSR calibration models obtained were considered efficient in AA content prediction and they can be applied to verify AA content in fruits that will be used in pulp production or AA stability after processing or during storage. Thus, the models were applied in the verification of the stability of AA in storage under freezing of the guava pulp.

3.3 ASCORBIC ACID EVALUATION DURING STORAGE

NIR multivariate calibration models created for both pasteurized and non-pasteurized pulps were applied to determine AA content during guava pulp storage. Figure 5A and 5B shows AA behavior in frozen guava pulps during storage, by PLSR. It was not possible to evaluate AA behavior of pasteurized samples produced in March because they were not applied in AA calibration model.

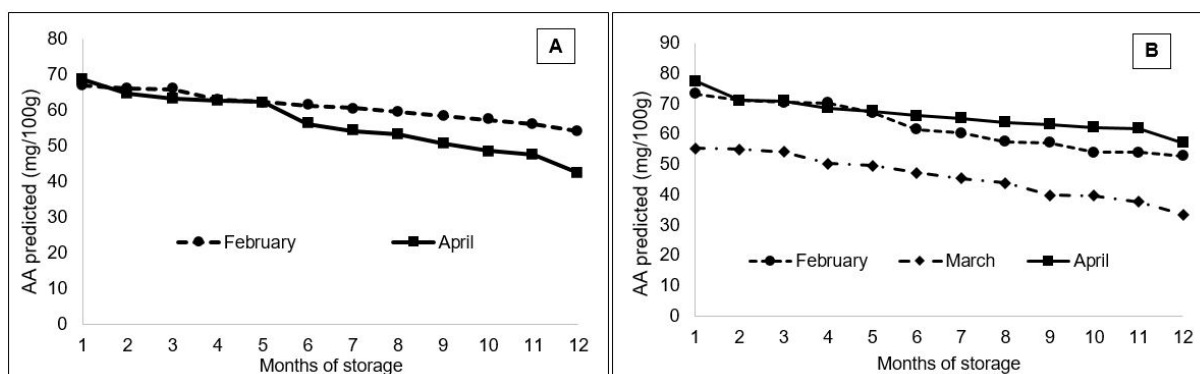


Figure 5. Ascorbic acid behavior in guava pulps [pasteurized (A) and non-pasteurized (B)].

Analyzing figure 5 it was possible to verify that the decrease of the AA content was similar for the samples of all the months of processing. Pasteurized samples showed an accumulated decrease of AA of 19% and 38% for February and April pulps, respectively. Simultaneously, for non-pasteurized samples, AA decrease was 28%, 40% and 26% for February, March and April pulps, respectively. The heat treatment is responsible for increasing the loss of AA and this loss can be increased in samples with a lower acid content, since the acidity assists in the stability of the bioactive. Guava fruits, for February, March and April, applied in the production of the pulps presented the respective contents of acidity: 0.3, 0.5 and 0.1 mg/100g. The low acidity of the pasteurized samples of April facilitated the inactivation of AA during the storage; however, the higher acidity of the March samples was not enough to avoid bioactive losses, since the low initial AA content was responsible for the greater loss during storage.

Heat pasteurization and refrigeration storage effects in AA content of kiwi puree were evaluated through the reduction of 2,6-dichlorophenol indophenol. Kiwi puree suffered a loss of 9% in its AA content after thermal processing, and after 7 weeks of refrigeration storage, the loss in the content of this bioactive was of 67%, while control samples (without pasteurization) lost 73% of its AA (LYU et al., 2018). Losses in AA content (HPLC quantification) in Strawberry puree was also verified after heat treatment (85°C/2 min) and refrigeration storage; It occurred a decrease of 98% in AA content after 35 days of refrigeration storage (AABY et al., 2018).

Raman spectroscopy and chemometrics (PCA and PLSR) were used to determine thermal degradation of carotenoids in processed sweet potato; Drying of sweet potato samples was performed under 85°C until constant weight and carotenoids content suffered a loss of 55%. PLSR models were created using 4 to 7 latent variables and RMSEP values found were from 13 to 26% (SEBBEN et al., 2018). NIR spectroscopy was applied to evaluate quality (soluble solids content, titratable acidity and lycopene content) at stored tomatoes. NIR spectra was used to create calibration models (PLSR) and it was possible to quantify lycopene content during refrigeration storage, showing that the lycopene content of tomatoes increased after 12 days, demonstrating the maturation of these fruits (SAAD et al., 2016).

It is possible to verify that the vibrational spectroscopies (for example, Raman and NIR) can be applied as green alternatives to verify losses of bioactive compounds either in processing or in storage. However, it should be noted that NIR spectroscopy has not been used in determining the loss of ascorbic acid in fruit pulps and other food sources. Vibrational spectroscopies, along with chemometric tools, are considered optimal alternatives for the determination of bioactive compounds losses since they are environmentally friendly and guarantee the safety of the operator, characterize them as green analytical chemistry.

4. CONCLUSION

Guava fruit in different maturation levels produced pulps with different AA levels and different characteristics. Heat treatment was responsible for higher AA losses during processing. Pasteurized and non-pasteurized guava pulps produced were applied to obtain calibration PLSR models that were considered efficient to determine AA content at those pulps. Pasteurized pulps with lower acidity content presented a higher AA loss during storage, as well as pulps with a low initial AA content. NIR spectroscopy can be considered as a useful tool to verify bioactive compounds behavior during storage.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank FAPESP (Foundation for Research Support of the State of São Paulo – process: [grant number: 2015/15848-0]) and CAPES (Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel – finance code 001) for the financial support.

REFERENCES

- AABY, K. et al. Effect of high pressure and thermal processing on shelf life and quality of strawberry purée and juice. **Food Chemistry**, v. 260, p. 115–123, 15 set. 2018.
- ALAMAR, P. D. et al. Quality evaluation of frozen guava and yellow passion fruit pulps by NIR

spectroscopy and chemometrics. **Food Research International**, v. 85, p. 209–214, 2016.

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 17th. ed. Maryland, USA: [s.n.]. v. 64

BENASSI, M. T.; ANTUNES, A. J. Comparison of metaphosphoric and oxalic acids as extractant solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 31, p. 507–513, 1988.

BOLEA, C. et al. Thermal degradation kinetics of bioactive compounds from black rice flour (*Oryza sativa* L.) extracts. **Journal of Cereal Science**, v. 71, p. 160–166, 1 set. 2016.

CARAMÊS, E. T. S. et al. Quality control of cashew apple and guava nectar by near infrared spectroscopy. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 56, p. 41–46, mar. 2017.

CARDELLO, H. M. A. B.; CARDELLO, L. Teor de vitamina C, atividade de ascorbato oxidase e perfil sensorial de manga (*Mangífera indica* L.) var. haden, durante o amadurecimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 2, p. 211–217, maio 1998.

CUNHA, K. D. et al. Estabilidade de ácido ascórbico em sucos de frutas frescos sob diferentes formas de armazenamento. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 2, p. 139–145, 2014.

HWANG, S. G.; LI, Y. Y.; LINA, H. L. Excellent nutritional value in fruits of three guava cultivars in Taiwan. **Acta Horticulturae**, v. 1166, p. 209–213, 2017.

IGNAT, T. et al. Non-destructive measurement of ascorbic acid content in bell peppers by VIS-NIR and SWIR spectrometry. **Postharvest Biology and Technology**, v. 74, p. 91–99, dez. 2012.

LIMA, M. A. C. DE; ASSIS, J. S. DE; GONZAGA NETO, L. Caracterização dos frutos de goiabeira e seleção de cultivares na Região do Submédio São Francisco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 1, p. 273–276, 2002.

LYU, X. et al. Quality and consumer acceptance of radio frequency and traditional heat pasteurised kiwi puree during storage. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 53, n. 1, p. 209–218, jan. 2018.

MEGALE, J. **Influência do estágio de maturação e da condição de armazenagem em parâmetros sensoriais, químicos e microbiológicos de manga, cultivar Palmer, semi-** [s.l.] Universidade Estadual de Campinas, 2002.

ORDÓÑEZ-SANTOS, L. E. et al. Thermal degradation kinetics of vitamin C in guava fruits (*Psidium guajava* L.). **Revista Lasallista de Investigación**, v. 10, n. 2, p. 44–51, dez. 2013.

PISSARD, A. et al. Non-destructive measurement of vitamin C, total polyphenol and sugar content in apples using near-infrared spectroscopy. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 2, p. 238–244, jan. 2013.

POLINATI, R.; OLIVEIRA, L.; FIALHO, E. Bioactive compounds, vitamin C and antioxidant capacities of fresh and industrialized frozen pulps of guava (*psidium guajava* L.). **Natural Products Journal**, v. 2, n. 3, p. 196–204, 2012.

ROCHA, N. et al. Perdas Vitamínicas Durante o Tratamento Térmico de Alimentos Losses of Vitamins in Heat Treatment of Foods. p. 121–128, 2012.

SAAD, A. et al. Non-destructive quality monitoring of stored tomatoes using VIS-NIR spectroscopy. **Engineering in Agriculture, Environment and Food**, v. 9, n. 2, p. 158–164, 2016.

SEBBEN, J. A. et al. Development of a quantitative approach using Raman spectroscopy for

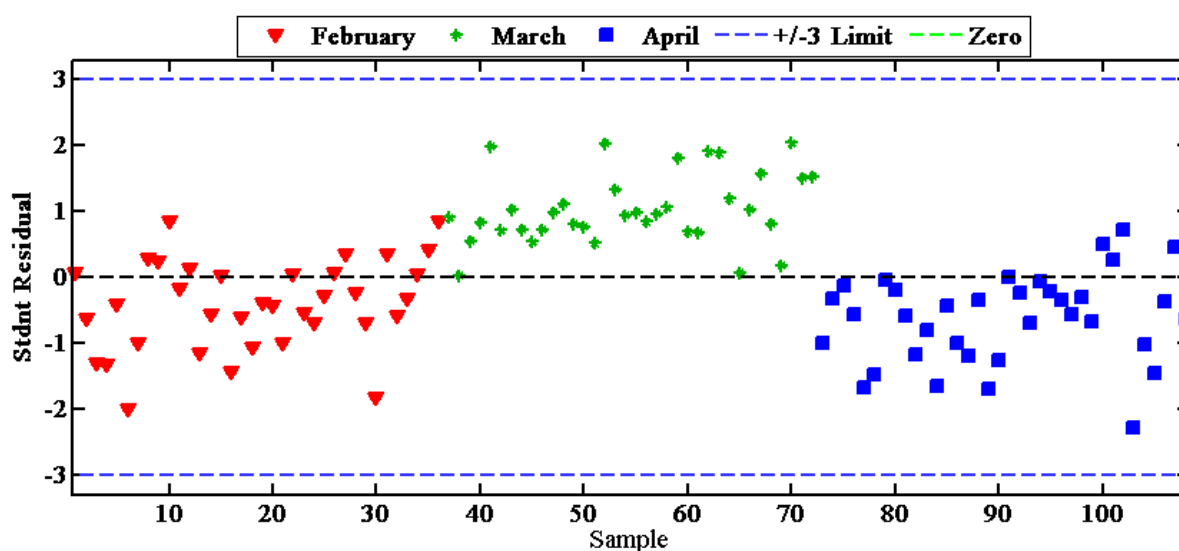
carotenoids determination in processed sweet potato. **Food Chemistry**, v. 245, p. 1224–1231, 15 abr. 2018.

SIRIAMORNpun, S.; KAEWSEEJAN, N. Quality, bioactive compounds and antioxidant capacity of selected climacteric fruits with relation to their maturity. **Scientia Horticulturae**, v. 221, n. February, p. 33–42, 2017.

WANG, F. et al. Chemical Components and Bioactivities of *Psidium guajava*. **International Journal of Food Nutrition and Safety**, v. 5, n. 2, p. 98–114, 2014.

XIE, L. et al. Quantification of glucose, fructose and sucrose in bayberry juice by NIR and PLS. **Food Chemistry**, v. 114, n. 3, p. 1135–1140, jun. 2009.

SUPPLEMENTARY MATERIAL



Supplementary Figure 1. Student Residuals of Pasteurized Guava Pulp.

DISCUSSÃO GERAL

A produção mundial de frutas vem em constante crescimento já que sua qualidade nutricional, vitaminas, minerais e compostos bioativos, está diretamente relacionada com a prevenção de diversos tipos de doenças, como as doenças cardiovasculares, câncer e obesidade (DOS SANTOS et al., 2017). O período de safra de algumas frutas pode ser bem curto e seu processamento em subprodutos torna-se uma grande ferramenta para garantir a presença desses alimentos no mercado durante todo o ano, além de aumentar sua vida de prateleira (SHINWARI; RAO, 2018).

Devido à sua alta produção na agricultura brasileira e sua alta aplicação na produção de polpa congelada (IBGE, 2010), as frutas goiaba e maracujá foram selecionadas para verificação da conformidade de seus Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) através da técnica alternativa de espectroscopia de infravermelho em substituição dos métodos oficiais da AOAC (AOAC, 1999), incluindo análises titulométricas, refratométricas, potenciométricas e gravimétricas.

Nessa primeira etapa, as amostras comerciais coletadas de polpa de goiaba e maracujá foram analisadas quanto aos parâmetros PIQ (sólidos solúveis, pH, acidez total, ácido ascórbico, açúcares totais e sólidos totais) aplicando os métodos da AOAC. Os espectros coletados no NIR para todas as amostras foram utilizados, assim como os dados experimentais obtidos com uso dos métodos oficiais para as mesmas amostras para a obtenção de um modelo de calibração multivariada, com uso de ferramentas quimiométricas. Para tanto, cada espectro das amostras, que possui diversas variáveis, foram comparados estatisticamente aos dados obtidos após uso dos métodos oficiais para a criação de uma equação responsável pela quantificação de cada parâmetro (FERREIRA, 2015). Um modelo de regressão foi criado para realizar a quantificação dos parâmetros estabelecidos pelo PIQ, sendo então selecionado o método estatístico PLSR (*Partial Least Squares Regression*).

Anteriormente à criação dos modelos de regressão, os dados obtidos por métodos oficiais para os seis parâmetros foram comparados aos limites estabelecidos pela legislação brasileira a fim de detectar se alguma das amostras comerciais coletadas apresentava-se em desacordo com o estipulado. Foi então apurado que, com exceção de açúcares totais (para ambas as polpas) e pH para a polpa de goiaba, quase todos os parâmetros apresentaram amostras em desacordo com o definido pelo Ministério da Agricultura (BRASIL, 2000).

Em alguns parâmetros, como no caso de sólidos totais (nesse trabalho avaliado em teor de umidade), mais de 20 amostras, considerando as 50 amostras de cada tipo de polpa, apresentaram teores superiores aos limites. O teor de umidade pode variar nas frutas de acordo com sua composição, época do ano, entre outras características (ARAÚJO et al., 2017). Porém, a adição de água na extração de polpa de qualquer tipo de fruta é uma prática,

considerada fraude por adulteração, que pode ser realizada por alguns produtores a fim de obter maior retorno financeiro. Em certos casos, a adição de açúcar pode ser realizada em conjunto para padronizar o teor de sólidos solúveis e/ou açúcares totais. Essa prática é, portanto, considerada ilegal, uma vez que polpa de fruta é definida como o produto que é obtido sem adição de água ou açúcar e a adição de qualquer um desses dois componentes.

Em relação aos teores de sólidos solúveis, cerca de 30 amostras de polpa de goiaba e 34 de polpa de maracujá, apresentaram valores de °Brix inferiores aos limites, indicando que os frutos utilizados para a obtenção das polpas não apresentavam um grau de maturação elevado, ou seja, os frutos utilizados não estavam adequados para a produção de polpas. Tal resultado refletiu nos valores de pH das polpas de maracujá, as quais exibiram valores de pH abaixo do esperado, pois amostras de menores graus de maturação apresentam um maior teor de acidez (15 amostras com valores superiores ao limite), o que acarreta na diminuição do pH apresentado pela fruta (SIRIAMORNUN; KAEWSEEJAN, 2017).

Os valores de ácido ascórbico encontrados para a polpa de goiaba foram considerados em desacordo (inferiores) para 96% das amostras comerciais analisadas. Esse comportamento pode estar relacionado com diversos fatores relacionados aos frutos aplicados no processamento da polpa, entre eles: espécie e variedades, condições climáticas e de cultivo, estágio de maturação, período de safra, entre outros fatores (HWANG; LI; LINA, 2017). Além dos fatores relacionados ao fruto, existem os fatores relacionados ao processo de elaboração da polpa, já que esse composto é altamente sensível a alterações bruscas de temperatura no tratamento térmico, pH ou presença de íons metálicos e incidência de luz (ORDÓÑEZ-SANTOS et al., 2013; RAWSON et al., 2011).

Após a avaliação dos dados experimentais obtidos por métodos oficiais (bancada) e a verificação das amostras em desacordo com a legislação, os modelos de regressão baseados nos espectros NIR foram obtidos. Os modelos criados para umidade, sólidos solúveis e pH apresentaram um coeficiente de determinação acima de 0,70 e RMSEC inferiores a 10%, para as polpas de goiaba e maracujá. Os componentes que estavam em menor teor nas polpas apresentaram maiores valores de erro de predição, como no caso da acidez, em ambas as polpas, onde os valores de RMSEP representaram 12% do teor de ácidos orgânicos. Torres et al. (2015) e Maniwaru et al. (2014) analisaram acidez titulável para tomates e maracujá, respectivamente, os quais encontraram RMSEP de 0,26; os erros encontrados nesses trabalhos representaram 65% e 14%, respectivamente, do valor de acidez das matrizes estudadas.

Devido aos baixos teores de ácido ascórbico encontrados para a polpa de goiaba, o modelo de calibração criado apresentou erros de predição altos (RMSEP = 6,13 mg/100g, 22% do teor de ácido ascórbico), porém, apesar dos erros encontrados, o modelo criado

apresentou uma boa exatidão na predição ($R^2 = 0,85$), sendo considerado adequado para a quantificação desse componente em polpa de goiaba. Situação semelhante foi reportada na determinação da mesma vitamina em pimentões (IGNAT et al., 2012b) em que os autores relataram RMSEP de 16 mg/100g (cerca de 20% do valor total de ácido ascórbico nas amostras).

Dentre os modelos elaborados no presente trabalho, aqueles elaborados para o teor de umidade e açúcares totais, em ambas as polpas, merecem destaque devido aos baixos valores de RMSEC e RMSEP encontrados e coeficientes de determinação em torno de 0,90. Oliveira et al. (2014) determinaram açúcares totais em maracujá e RMSEP e R^2 encontrados foram de 5,1 e 0,83, onde o RMSEP é considerado superior aos encontrados para açúcares no presente trabalho (0,2 a 0,4) e R^2 considerado inferior ao dos modelos de açúcares totais para polpa de goiaba e maracujá (0,90).

Apesar da presença de ácido ascórbico em sua polpa, o maracujá não é considerado uma fonte desse bioativo, por esse motivo ele não apresenta limites em relação ao seu teor na legislação (BRASIL, 2000). Pelos baixos teores de ácido ascórbico encontrados na polpa de maracujá, o modelo NIR não apresentou bom desempenho, sendo então descartado.

Baseando-se nos modelos de regressão obtidos, a espectroscopia NIR foi considerada como uma ótima alternativa às técnicas oficiais atualmente aplicadas para o controle de polpas de goiaba e maracujá, possibilitando a quantificação dos parâmetros com menor tempo, alta exatidão e evitando a geração de resíduos de reagentes químicos e, consequente, contaminação ambiental e danos aos manipuladores.

Além dos modelos de regressão obtidos, os dados experimentais dos parâmetros do PIQ demonstraram que as polpas de frutas estão suscetíveis a fraude por adição de água e, consequentemente, pela adição de açúcar. Sendo assim, a polpa de goiaba foi então escolhida como objeto de estudo para a segunda fase do trabalho, cujo objetivo foi utilizar a espectroscopia do infravermelho (comparação de desempenho ente NIR e MIR) na detecção de adulteração de polpa pela adição de água ou açúcar. Outro ponto evidenciado por essa análise foi o baixo teor de ácido ascórbico encontrado para a polpa de goiaba, uma vez que essa fruta é considerada uma fonte do bioativo, o que poderia indicar perda do composto pelo processamento ou armazenamento. Desta forma, a polpa de goiaba também foi selecionada para a terceira fase do trabalho que teve como propósito avaliar o efeito de processamento de pasteurização e armazenamento por congelamento durante um ano, após produção por dois tipos de processamento (com e sem pasteurização) com uso de espectroscopia NIR e quimiometria.

Para a segunda e a terceira etapas do trabalho, os frutos de goiaba coletados durante a safra brasileira (fevereiro a abril) foram processados em planta piloto com e sem

tratamento térmico (95°C/5min), formando então dois grupos de amostras, pasteurizadas e não pasteurizadas. As goiabas coletadas em cada mês foram avaliadas quanto ao seu teor de ácido ascórbico para posterior comparação com o teor resultante da vitamina nas polpas e determinar as possíveis perdas. Parte da polpa não pasteurizada foi selecionada para a segunda etapa do estudo (espectroscopia no NIR e MIR e quimiometria para detecção de fraudes), a qual parte foi armazenada como polpa autêntica e parte foi adulterada com água e açúcar a proporções diferentes, para cada mês de safra. Já para a terceira etapa do estudo, amostras de cada mês de safra (fevereiro, março e abril), foram fracionadas em porções, embaladas em sacos plásticos, seladas a quente e armazenadas sob congelamento (simulando o armazenamento de amostras comerciais).

No estudo de uso de NIR e MIR para a detecção de adulteração das polpas, amostras de polpas adulteradas e autênticas foram analisadas por espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) e também médio (MIR). A espectroscopia MIR também foi selecionada devido às informações diferenciadas encontradas em seus espectros. Uma das metas dessa etapa do trabalho foi, também, realizar uma comparação entre as técnicas analíticas. Os espectros coletados, para ambas as técnicas, foram utilizados em análise discriminatórias, com a obtenção de modelos de classificação (SIMCA, k-NN e PLS-DA) e cartas de controle, os quais tiveram o desempenho avaliado com base nas figuras de mérito (sensibilidade, especificidade, exatidão e eficiência) e outras ferramentas quimiométricas. A região de *fingerprint* (1500 a 500 cm⁻¹) nos espectros MIR facilitaram na diferenciação entre amostras devido ao maior número de informação espectral, sendo então escolhida para a criação das cartas de controle e dos modelos de classificação. Já os espectros NIR apresentaram-se similares em todas as amostras (autênticas e adulteradas com água ou açúcar), sendo necessária a aplicação de um número maior de pré-processamentos, diferente dos espectros MIR, que necessitaram apenas dos pré-processamentos mais simples alisamento e centrar na média.

As cartas de controle foram elaboradas a partir da análise de componentes principais (PCA) pela análise do gráfico amostras versus resíduos Q. Amostras autênticas apresentaram-se abaixo do limite dos resíduos Q, a confusão entre as amostras autênticas e adulteradas faz com que amostras autênticas apareçam acima do limite e amostras adulteradas sejam consideradas autênticas. Tal comportamento foi apresentado pelas amostras adulteradas com água e analisadas por NIR, fazendo com que a carta de controle com emprego de espectros de NIR não fosse adequada para verificar adulteração por adição de água. Ao contrário do comportamento apresentado na carta controle NIR, as cartas criadas para os espectros MIR mostraram-se adequadas para a detecção de adulteração em ambos os casos, devido a aplicação da região do *fingerprint* para obtenção das cartas. A detecção da adição de açúcar, através da análise por cartas de controle foi considerada mais simples,

tanto para NIR quanto para MIR, pois a presença do açúcar criou sutis modificações nos espectros, facilitando a diferenciação. Carta de controle foi aplicada para a detecção de adulteração de açaí em pó com diversas matrizes vegetais, sendo considerada adequada para a verificação de fraude nessa matriz, pois os valores encontrados para os resíduos Q, das amostras adulteradas, foram superiores ao limite (LOBATO et al., 2018); comportamento similar ao encontrado para as cartas de controle NIR e MIR para amostras adulteradas com açúcar e amostras adulteradas com água, apenas MIR.

Os modelos de classificação foram criados aplicando diferentes pré-processamentos nos espectros NIR e MIR, dentre os quais foram selecionados aqueles que apresentaram maiores valores de sensibilidade e especificidade. Após a seleção de seis modelos (três para NIR e três para MIR; SIMCA, k-NN e PLS-DA) baseados em sensibilidade e especificidade, foi verificada a exatidão e eficiência de cada modelo, a fim de verificar qual deles era considerado o mais adequado para cada técnica espectrométrica. Todos os modelos apresentaram altos valores de exatidão e eficiência, porém, os modelos k-NN apresentaram 100% para ambas as figuras de mérito, sendo então escolhidos como os melhores modelos para verificação de adulteração em polpa de goiaba. A identificação de adulteração em óleo de cinorródio pela adição de óleo de milho foi realizada pela aplicação de espectroscopia MIR; o modelo de classificação criado (PLS-DA) apresentou valores de eficiência e exatidão de 100% (SANTANA et al., 2016). A espectroscopia NIR foi aplicada na verificação da adulteração de creme de avelã pela adição de grão de bico; um modelo SIMCA foi criado a partir dos espectros e foram encontrados valores de exatidão e eficiência de 100% (MÁRQUEZ et al., 2016). Tais resultados demonstram que as espectroscopias no infravermelho são técnicas adequadas na verificação de adulteração de polpa de goiaba, porém MIR apresentou vantagens para aplicação.

Novamente considerando a terceira etapa do estudo, as amostras pasteurizadas e não pasteurizadas processadas foram armazenadas simulando o armazenamento de amostras comerciais (em embalagem plástica e na presença de oxigênio) e o teor de ácido ascórbico foi quantificado trimestralmente, pelo método tradicional 967.21 (AOAC, 1999), e para as mesmas amostras foram coletados espectros na região do NIR. Apenas a espectroscopia NIR foi selecionada para a terceira etapa do trabalho, pois ela já havia se mostrado adequada na quantificação do ácido ascórbico na primeira etapa do estudo.

Os frutos de goiaba coletados a cada mês de safra para a produção de polpa apresentaram diferentes teores de ácido ascórbico, sendo 76 mg/100g para o mês de fevereiro, 54 mg/100g para março e 85 mg/100g para abril. O processamento sem tratamento térmico acarretou em uma perda bem reduzida de ácido ascórbico, de 2 a 4%, porém, a temperatura de 95°C por 5 minutos acarretou em perdas maiores, de 5 a 8% nas polpas de fevereiro e abril e de 20% na polpa de março. A maior inativação da vitamina durante o

processamento térmico já era esperada, uma vez que o aumento da temperatura facilita a oxidação pelo oxigênio presente. Além disso, frutos mais maduros tendem a apresentarem um maior teor em enzimas como a ácido ascórbico oxidase, o que aumenta ainda mais a perda do bioativo, como pode ser visualizado na polpa pasteurizada do mês de março (CARDELLO; CARDELLO, 1998; MEGALE, 2002).

Após o processamento e armazenamento das seis polpas produzidas, o teor de ácido ascórbico foi quantificado de mês a mês (durante um ano) e os dados obtidos foram correlacionados com os espectros NIR para construção de modelos de calibração multivariada. Os modelos PLSR apresentaram R^2 superiores a 0,75 e RMSEP de 4,8 a 5,6 mg/100g. Na criação desses modelos, as amostras de polpa pasteurizadas obtidas com frutas coletadas no mês de março foram removidas, pois, após o congelamento verificou-se que as amostras sofreram exsudação, o que acarretaram em espectros com alto resíduo de Student.

A partir dos teores de ácido ascórbico preditos pelos modelos de calibração multivariada construídos, com o uso de espectros obtidos na região do NIR, foi possível verificar o comportamento do bioativo durante os 12 meses de armazenamento. As amostras sofreram perdas de cerca de 20 a 40% no teor de vitamina C, sendo tanto para as amostras que sofreram tratamento térmico quanto para as amostras sem tratamento térmico. As maiores perdas foram verificadas na polpa não pasteurizada de março (40%) e na polpa pasteurizada de abril (38%). O baixo teor inicial de ácido ascórbico e o alto grau de maturação da polpa não pasteurizada de março foram responsáveis pela maior perda do bioativo. Em relação às polpas pasteurizadas, baixos valores de acidez total podem aumentar a instabilidade do ácido ascórbico, sendo assim, a polpa de abril, que possuía um teor de acidez total de 0,1 mg/100g quando comparada com a polpa de fevereiro (0,3 mg/100g), apresentou uma maior queda no teor de ácido ascórbico.

Sebastiany et al. (2009) estudou a perda de ácido ascórbico em polpa de acerola congelada, a qual apresentou uma perda de 60 a 80% do composto após 90 dias de armazenamento. A espectroscopia no NIR já foi aplicada na determinação de perdas por armazenamento em tomates; os modelos de calibração indicaram a diminuição no teor de licopeno nas amostras após 12 dias de armazenamento, resultado esperado devido ao processo de maturação dos frutos (SAAD et al., 2016). Os resultados obtidos nesse estudo, confirmaram que a espectroscopia NIR é adequada e apresentada viabilidade de uso na verificação de degradação de compostos bioativos, como o ácido ascórbico.

A espectroscopia no infravermelho se mostrou bem eficiente na determinação de parâmetros de qualidade, adulteração ou avaliação da estabilidade de compostos bioativos de polpa de fruta. Ela confirmou-se como uma alternativa verde, garantindo a diminuição de geração de resíduos tóxicos e aumento na agilidade da obtenção dos resultados,

demonstrando-se também uma técnica versátil e multifuncional, podendo ser aplicada na análise de polpas de fruta.

CONCLUSÃO GERAL

A maioria dos métodos tradicionais de análise aplicados para controle de qualidade (PIQ) polpas de frutas requerem a utilização de reagentes/solventes tóxicos, o que acarreta na geração de resíduos tóxicos. Por outro lado, o tempo necessário para a obtenção dos resultados pode ser elevado, assim como o custo médio para muitos desses métodos de procedimentos tradicionais. Esse contexto considerado, as técnicas espectrométricas NIR e MIR, em combinação com técnicas quimiométricas, foram consideradas boas alternativas para a substituição desses métodos tradicionais (sem geração de resíduos e com baixo custo médio por análise) na avaliação de diferentes parâmetros de qualidade em polpas de fruta congelada (goiaba e maracujá), verificação da degradação do ácido ascórbico em polpa de goiaba durante um ano de armazenamento por congelamento, além da detecção de adulteração em polpa de goiaba pela adição de água ou açúcar, demonstrando eficiência e rapidez, com baixos erros de calibração e predição e bons coeficientes de determinação. Um ponto a ser considerado, na aplicação das espectroscopias NIR e MIR na análise de produtos vegetais, é a necessidade de um amplo treinamento dos analistas para a aplicação das ferramentas quimiométricas na análise dos dados espectrométricos obtidos.

A espectroscopia NIR foi eficientemente aplicada na determinação de padrões de identidade e qualidade de polpas congeladas comerciais de goiaba e maracujá, resultando em baixos RMSEC e RMSEP. A criação de modelos de calibração multivariada de certos parâmetros, como o pH na polpa de goiaba, pode ser dificultada quando da utilização de amostras comerciais, pois produtos comerciais tendem a ser padronizados quanto ao pH para evitar contaminação microbiana e aumentar a vida de prateleira dos produtos. Além desse parâmetro, a calibração de micronutrientes, como o ácido ascórbico, também é prejudicada em matrizes que não são considerados fonte desses bioativos, como no caso do maracujá, levando a modelos com altos erros de calibração/predição e baixo coeficiente de determinação, impossibilitando a criação de um modelo para esse caso.

O efeito do processamento da polpa (com ou sem pasteurização) sobre o teor de ácido ascórbico foi determinado, indicando perdas de 2 a 4% sem a aplicação de altas temperaturas e de 5 a 20% com o tratamento térmico. Além disso, o NIR foi aplicado para avaliar a degradação do ácido ascórbico de polpa de goiaba (pasteurizada e não pasteurizada) pelo período de 1 ano durante o seu armazenamento sob congelamento e demonstrou-se adequada para a determinação da degradação em polpas após tratamento térmico ou não, as quais apresentaram uma diminuição de 20 a 40% em seu teor no período total de 12 meses.

NIR e MIR, combinadas com cartas de controle e modelos de classificação, foram consideradas técnicas adequadas para a detecção da adulteração (adição de água ou açúcar)

de polpa de goiaba, sendo indicadas para a aplicação na indústria de polpas para controle de processo. A presença da região do *fingerprint* nos espectros MIR auxiliou na diferenciação de amostras autênticas e adulteradas, tanto com açúcar quanto com água nas cartas de controle; como o espectro NIR não apresenta essa região de especificidade, a carta de controle criada para amostras adulteradas com água, não apresentou eficiência suficiente para a diferenciação das amostras autênticas. Em relação aos modelos de classificação, concluiu-se que o método de classificação por k-NN mostrou-se o mais adequado, em comparação com o método de classificação PLS-DA, para ambas as técnicas espectrométricas, pois apresentou os melhores valores de eficiência e exatidão.

A espectroscopia no infravermelho (médio e próximo) confirmou-se como uma alternativa viável e válida para a substituição das técnicas tradicionais para a análise de polpas de fruta (goiaba e maracujá) congeladas ao se considerar os resultados apresentados nesse trabalho e apresenta diversas vantagens quando comparadas às técnicas tradicionais, já que são consideradas técnicas verdes (não geradora de resíduos tóxicos), além de serem rápidas, eficientes e apresentam a possibilidade de aplicação durante o processamento para garantia da qualidade requerida pela legislação (PIQ e adulteração) e qualidade funcional (bioativos).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 17th. ed. Maryland, USA: [s.n.]. v. 64
- ARAÚJO, S. et al. Effect of time and storage conditions on the physical and physico-chemical characteristics of the pulp of yellow and purple passion fruit. **Food Science and Technology**, v. 37, n. 3, p. 500–506, 2017.
- BRASIL. **Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta**. Instrução Normativa No 01, de 07 de janeiro de 2000, 2000.
- CARDELLO, H. M. A. B.; CARDELLO, L. Teor de vitamina C, atividade de ascorbato oxidase e perfil sensorial de manga (*Mangífera indica* L.) var. Haden, durante o amadurecimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 2, p. 211–217, maio, 1998.
- DE OLIVEIRA, G. A. et al. Comparison of NIRS approach for prediction of internal quality traits in three fruit species. **Food Chemistry**, v. 143, p. 223–230, jan. 2014.
- DOS SANTOS, Q. et al. Consumption of fruits and vegetables among university students in Denmark. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 10, p. 1–6, 1 dez. 2017.
- FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria: Conceitos, Métodos e Aplicações**. 1a Edição ed. [s.l.] Editora UNICAMP, 2015.
- HWANG, S. G.; LI, Y. Y.; LINA, H. L. Excellent nutritional value in fruits of three guava cultivars in Taiwan. **Acta Horticulturae**, v. 1166, p. 209–213, 2017.
- IBGE. **Pesquisa de Orçamento Famílias: Aquisição Alimentar Domiciliar per Capita**. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv47307.pdf>>. Acesso em: 24 jun. 2018.
- IGNAT, T. et al. Non-destructive measurement of ascorbic acid content in bell peppers by VIS-NIR and SWIR spectrometry. **Postharvest Biology and Technology**, v. 74, p. 91–99, dez. 2012.
- LOBATO, K. B. DE S. et al. Authenticity of freeze-dried açaí pulp by near-infrared spectroscopy. **Journal of Food Engineering**, v. 224, p. 105–111, 2018.
- MANIWARA, P. et al. The use of visible and near infrared spectroscopy for evaluating passion fruit postharvest quality. **Journal of Food Engineering**, v. 143, p. 33–43, dez. 2014.
- MÁRQUEZ, C. et al. FT-Raman and NIR spectroscopy data fusion strategy for multivariate qualitative analysis of food fraud. **Talanta**, v. 161, p. 80–86, 2016.
- MEGALE, J. Influência do estágio de maturação e da condição de armazenagem em parâmetros sensoriais, químicos e microbiológicos de manga, cultivar Palmer, semi-processada. **Dissertação de mestrado**. Universidade Estadual de Campinas, 2002.

- ORDÓÑEZ-SANTOS, L. E. et al. Thermal degradation kinetics of vitamin C in guava fruits (*Psidium guajava* L.). **Revista Lasallista de Investigación**, v. 10, n. 2, p. 44–51, dez. 2013.
- RAWSON, A. et al. Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: Review of recent advances. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1875–1887, 2011.
- SAAD, A. et al. Non-destructive quality monitoring of stored tomatoes using VIS-NIR spectroscopy. **Engineering in Agriculture, Environment and Food**, v. 9, n. 2, p. 158–164, 2016.
- SANTANA, F. B. DE et al. Non-destructive fraud detection in rosehip oil by MIR spectroscopy and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 209, p. 228–233, 2016.
- SEBASTIANY, E. et al. Perda de vitamina C durante o armazenamento de polpa de acerola congelada. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 281–288, 2009.
- SHINWARI, K. J.; RAO, P. S. Stability of bioactive compounds in fruit jam and jelly during processing and storage: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 75, p. 181–193, 1 maio 2018.
- SIRIAMORNPNUN, S.; KAEWSEEJAN, N. Quality, bioactive compounds and antioxidant capacity of selected climacteric fruits with relation to their maturity. **Scientia Horticulturae**, v. 221, n. February, p. 33–42, 2017.
- TORRES, I. et al. Fast and accurate quality assessment of Raf tomatoes using NIRS technology. **Postharvest Biology and Technology**, v. 107, p. 9–15, set. 2015.

ANEXOS



Food Research International

Volume 85, July 2016, Pages 209–214



Quality evaluation of frozen guava and yellow passion fruit pulps by NIR spectroscopy and chemometrics

Priscila D. Alamar ^a  , Elem T.S. Caramês ^a, Ronei J. Poppi ^b, Juliana A.L. Pallone ^a

 **Show more**

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.04.027>

Get rights and content

[open access](#)

20/03/2019

Gmail - IFT Scientific Journals (JFS/JFSE/CRFSFS) - Manuscript JFDS-2019-0406



Priscila Alamar <priscila.alamar@gmail.com>

IFT Scientific Journals (JFS/JFSE/CRFSFS) - Manuscript JFDS-2019-0406

1 mensagem

IFT Editorial Office <onbehalfof@manuscriptcentral.com>

20 de março de 2019 13:01

Responder a: jfs@ift.org

Para: priscilaalamar@gmail.com

Dear Dr Priscila Alamar,

This is to inform you that an account has been created in your name, using this email address, on <https://mc.manuscriptcentral.com/jfs>. The following manuscript, for which you are a contributing author, has been successfully submitted to IFT's ScholarOne Manuscripts site:

Manuscript Title: Detection of fruit pulp adulteration using multivariate qualitative analysis: Comparison of NIR and MIR performance

Manuscript Number: JFDS-2019-0406

Journal of Food Science

General topic area: New Horizons in Food Research

As a contributing author, you will receive future communications via e-mail. Please make a note of your manuscript number and include it in all future communications.

If you already have an account on our system using a different email address, please alert me so I can merge the 2 accounts together.

JFS is always seeking qualified reviewers with a PhD or several years of relevant experience in a field related to Food Science. If you would like to support your peers by acting as a reviewer for JFS, please let me or one of our Scientific Editors know.

Thank you for your interest in IFT's Scientific Journals.

Sincerely,

IFT Journals Editorial Office
Institute of Food Technologists®
525 W. Van Buren Street, Suite 1000
Chicago, IL 60607-3830 USA
+1.312.806.8088 Mobile
jfs@ift.org

=====

This letter was generated automatically from ScholarOne Manuscripts
<https://mc.manuscriptcentral.com/jfs>

By submitting a manuscript to or reviewing for this publication, your name, email address, and affiliation, and other contact details the publication might require, will be used for the regular operations of the publication, including, when necessary, sharing with the publisher (Wiley) and partners for production and publication. The publication and the publisher recognize the importance of protecting the personal information collected from users in the operation of these services, and have practices in place to ensure that steps are taken to maintain the security, integrity, and privacy of the personal data collected and processed. You can learn more at <https://authorservices.wiley.com/statements/data-protection-policy.html>. In case you don't want to be contacted by this publication again, please send an email to jfs@ift.org.

25/02/2019

Gmail - Track your recent Co-Authored submission to FOODCHEM



Priscila Alamar <priscila.alar@gmail.com>

Track your recent Co-Authored submission to FOODCHEM

1 mensagem

Food Chemistry <eesserver@eesmail.elsevier.com>
Responder a: Food Chemistry <foodchem@elsevier.com>
Para: priscilaalar@gmail.com

20 de janeiro de 2019 14:51

*** Automated email sent by the system ***

Dear Dr. Priscila Alamar,

You have been listed as a Co-Author of the following submission:

Journal: Food Chemistry

Title: MONITORING ASCORBIC ACID STABILITY DURING FROZEN FRUIT PULP STORAGE AND EFFECT OF THE PASTEURIZATION PROCESS BY NEAR INFRARED SPECTROSCOPY.

Corresponding Author: Juliana Pallone

Co-Authors: Priscila D Alamar, Msc.; Elem Caramês, Msc.;

To be kept informed of the status of your submission, register or log in (if you already have an Elsevier profile).

Register here: <https://ees.elsevier.com/foodchem/default.asp?acw=&pg=preRegistration.asp&user=coauthor&fname=Priscila&lname=Alamar&email=priscilaalar@gmail.com>

Or log in: <https://ees.elsevier.com/foodchem/default.asp?acw=&pg=login.asp&email=priscilaalar@gmail.com>

If you did not co-author this submission, please do not follow the above link but instead contact the Corresponding Author of this submission at jpallone@unicamp.br.

Thank you,

Food Chemistry